Aus dem Hygiene-Institut der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. R.-E. Bader

Möglichkeiten und Leistungen der Strahlensterilisation

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
CHRISTA SCHMIDT
aus Berlin

1960

9486

Aus dem Hygiene-Institut der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. R.-E. Bader

Möglichkeiten und Leistungen der Strahlensterilisation

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
CHRISTA SCHMIDT
aus Berlin

Aus dem Hygiene-Institut der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. R.-E. Bader

Möglichkeiten und Leistungen der Strahlensterilisation

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Christa Schmidt
aus Berlin

Dekan: Professor Dr. W. Graumann
Berichterstatter: Professor Dr. R.-E. Bader

Inhaltsverzeichnis

I. Einleitung S. 5

II. Charakterisierung der Strahlen S. 6

III. Ultraviolette Strahlen S. 6

IV. Ionisierende Strahlen S. 10
a) Röntgen- und Kathodenstrahlen
b) Gammastrahlen

V. Wirkungsmechanismus der letalen Strahlenaktion S. 14

VI. Schutzwirkung und Reaktivierung S. 18
a) Protektion
b) Photoreaktivierung
c) Hitzereaktivierung
d) Metabolische Reaktivierung

VII. Sterilisation mit Strahlen S. 26
a) Sterilisationsmodus und -dosen
b) Mikrobielle Sensitivitätsunterschiede gegenüber Strahlen
c) Anwendung

Zusammenfassung S. 39

Literaturverzeichnis S. 40

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Herrn Professor Dr. R.-E. Bader danke ich für die Überlassung des Themas und freundliche Unterstützung der Arbeit.

I. Einleitung

Unter Sterilisation versteht man eine vollständige Abtötung aller Mikroorganismen. Dagegen bezeichnet die Desinfektion nur die Zerstörung der pathogenen Keime. Nach dem Deutschen Arzneibuch (6. Ausgabe, 1959) sind in der Praxis folgende Verfahren gebräuchlich: 1. Heißluftsterilisation; 2. Dampfsterilisation im Autoclaven mit gespanntem gesättigtem Wasserdampf; 3. Sterilisation durch geeignete Filter; 4. fraktioniertes Erhitzen und 5. aseptische Zubereitung. Daneben gewinnen zunehmend an Bedeutung die Sterilisation durch Gas (Äthylenoxyd) und durch Strahlen. Die zu wählende Methode richtet sich nach den Eigenschaften des Sterilisationsgutes. Hitzeempfindliche Artikel z.B. sind ungeeignet für Behandlungen mit hohen Temperaturen. Als ein solches hitzelabiles Material haben sich Kunststoffe mit zunehmender Verdrängung bislang gebräuchlicher Materialien in allen Bereichen des täglichen Lebens auch in der Medizin ein breites Feld für ihre Verwendung erschlossen. Herzklappen, Gefäßersatz und Einmalinstrumente sind Beispiele dafür, wie sich Kunststoffe auch auf diesem Gebiet unentbehrlich gemacht haben. Die in der Praxis gebräuchlichen Einweg-Instrumente wie Einmal-Spritzen, Einmal-Kanülen, Katheter und Skalpelle haben beträchtliche Vorteile gegenüber konventionellen Instrumenten. Sie sind verbrauchsfertig verpackt und steril verschlossen. Dadurch entfällt zeitraubendes Reinigen und Sterilisieren, und die Gefahr einer nachfolgenden Verunreinigung ist ausgeschlossen. Zur Sterilisation dieser Artikel eignen sich nur zwei Methoden, die Sterilisation durch Äthylenoxyd oder durch ionisierende Strahlen. Der Gassterilisation sind jedoch Grenzen gesetzt dadurch, daß die häufig als Verpackungsmaterial verwendeten Kunststoffolien meist unzureichend gasdurchlässig sind. Großtechnisch hat sich daher in zunehmendem Maße die Anwendung ionisierender Strahlen bewährt (P e t e r 1962).

Bereits ein Jahr nach der Entdeckung der X - Strahlen durch Konrad Röntgen, erwähnt M i n c h 1896 die keimtötende Wirkung dieser Strahlen auf Bakterien. Mit der Entdeckung der Radioaktivität 1896, wofür Henri Bequerel, Pierre und Marie Curie den

Nobelpreis erhielten, war eine neue Quelle ionisierender Strahlen gefunden. Über die biologischen Wirkungen dieser Strahlen herrschte lange Zeit Unkenntnis. Es dauerte bis in die Mitte der zwanziger Jahre, bis alle Gefahren der Radioaktivität mit Alpha-, Beta- und Gamma- sowie der Röntgenstrahlen deutlich wurden, und die zerstörende Wirkung auf lebendes Material bekannt war.

II. Charakterisierung der Strahlen

Eine Strahlung läßt sich definieren als Energietransport durch den Raum unter Nichtbeteiligung der den Raum etwa erfüllenden Materie. Dem elektromagnetischen Spektrum gehören Strahlungen an vom Wellenlängenbereich 10^{9} bis 10^{-12} cm über Wechselströme, Funkwellen, Hertzsche Wellen, optische Strahlung, Röntgenstrahlen und Gammastrahlen. Zu Sterilisationszwecken eignet sich aber nur der kurzwellige Bereich unterhalb des sichtbaren Spektrums. Zwar wird den infraroten Strahlen eine gewisse antibakterielle Wirkung zugesprochen, die aber als Hitzeeffekt gedeutet werden muß. Auch das Sonnenlicht zeigt eine bakterizide Aktivität, welche durch den UV-Anteil bedingt ist. Die Strahlen mit keimtötenden Eigenschaften, die zur Abtötung von Mikroorganismen Verwendung finden, lassen sich in zwei Gruppen einteilen. Der ersten gehören die ionisierenden Strahlen an einschließlich Röntgen-, Kathoden-, Gamma- und Betastrahlen sowie die relativ schweren Neutronen- und Protonenpartikel. Der zweiten Gruppe sind die längeren elektromagnetischen Wellen einschließlich ultraviolette Strahlen im Bereich 2000 bis 4000 A und Ultraschallwellen von sehr hoher Frequenz zugehörig.

III. Ultraviolette Strahlen

Der ultraviolette Anteil der optischen Strahlung erstreckt sich von 3600 A bis etwa 130 A. Wellenlängen dieses Bereiches bringen physikalische, chemische und biologische Wirkungen hervor, zu denen das längerwellige und energieschwächere sichtbare und ultrarote Spektrum nicht fähig sind.

Bei Untersuchungen der Effekte des elektromagnetischen Gesamtspektrums an drei Fadenpilzarten fand J o h n s o n (1932) als einzige Wirkung sichtbarer Lichtstrahlen eine Zunahme an Pigment bei Fusarium botatatis, nachdem eine Aussetzungszeit von mehr als einer Woche erreicht war. Eine Bestrahlung mit Infrarot (über 700 A) und Hertz'schen Wellen (50 - 100 m) blieb wirkungslos. Für die ultravioletten Strahlen hingegen ist eine Vielzahl biologischer Effekte nachgewiesen worden. Wie andere Strahlenarten mutationsauslösend sowohl auf höhere Organismen als auch auf Bakterien wirken, trifft das für den UV-Bereich ebenfalls zu. Es werden gleichartige Mutationen induziert, wie sie auch spontan vorkommen. Zwischen der Mutationsrate und der Bestrahlungsdosis bestehen quantitative Beziehungen. R a h n (1945) gibt das UV-Aktionsspektrum für die Induktion von Mutationen in Bakterien und höheren Organismen bei über 2600 A an. Er hält das Maximum mutagener Wirksamkeit für korrespondierend mit dem Absorptionsspektrum von DNS in diesem Wellenbereich. Mutationen können schon ausgelöst werden bei Bakterien durch Dosen, die so gering sind, daß eine Verminderung der Zahl lebender Zellen nicht meßbar ist (M a t n e y et al 1958).

Als Beispiele für Mutationen, die durch UV ausgelöst werden, lassen sich Streptomycinresistenz bei E.coli B/r (M a t n e y et al 1958), Veränderung der Färbeeigenschaft und Verlust der Säurefestigkeit (B a r t h o l o m e w and M i t t w e r 1952) anführen. Der Hinweis auf die mutagene Wirkung ist insofern interessant, als die Ursache der Letalität nach Strahleneinwirkung vielfach als Mutationseffekt diskutiert wurde (s.n.).

Schon 1877 fanden D o w n e s and B l u n t , daß Sonnenlicht auf bestimmte Bakterien letal wirkt. R o u x (1887) zeigte, daß Sporen sowohl als vegetative Formen von Bakterien durch diese Strahlen abgetötet werden. 1903 berichteten B a r n a r d and M o r g a n, daß der bakterizide Effekt auf Wellenlängen unter 3000 A begrenzt ist. Die Inaktivierungsfähigkeit des langwelligen UV und des sichtbaren Bereiches ist mehrfach untersucht worden. E h r i s m a n and N o e t h l i n g (1932) konnten im langwelligen UV keine Inaktivierungseffekte nachweisen. H o l l a e n d e r (1943) gelang es jedoch bei E. coli mit einem

Hg - Spektrum zwischen 3500 A und 4900 A Inaktivierung zu erzielen.

Der bakterizide Bereicht liegt zwischen 2400 A und 2800 A mit einem Optimum bei 2500 A bis 2650 A (R u b b o and G a r d n e r 1965, S y k e s 1965). G ä r t n e r (1947/48) gibt die optimal letal wirkende Wellenlänge für alle Bakterienarten mit 2540 A an. Andere Untersuchungen ergaben unterschiedliche Empfindlichkeiten gegenüber bestimmten Wellenlängen bei einzelnen Mikroorganismen. So konnte ein Sensitivitätsgipfel festgestellt werden bei 2650 A für Staphylococcus aureus (R i v e r s and G a t e s 1928; G a t e s 1929; E h r i s m a n and N o e t h l i n g 1932), Escherichia coli (W y c k h o f f 1932; H o l l a e n d e r and C l a u s 1936; H o l l a e n d e r and D u g g a r 1936), Pseudomonas pyocyaneus und Micrococcus candidans. Das Optimum der letalen Wirksamkeit für bakterielle Sporen wurde von D u g g a r and H o l l a e n d e r (1934a) zwischen 2652 und 2804 A angegeben. Für Saccharomyces cerevisiae (E h r i s m a n and N o e t h l i n g 1932) und Sporen von Trichophyton mentagrophytes (H o l l a e n d e r and E m m o n s 1939) liegt die optimal wirksame Wellenlänge ebenfalls bei 2650 A. Serratia marcescens zeigt die größte Empfindlichkeit bei 2801 A. Viren und virusähnliche Organismen lassen sich in zwei Gruppen einteilen bezüglich ihrer UV-Empfindlichkeit. Die erste Gruppe besitzt eine hohe Sensitivität bei Wellenlängen < 2300 A. Dazu gehören das Rous-Sarcoma-Virus (S t u r m, G a t e s and M u r p h y 1932) und das Tabak-Mosaik-Virus (H o l l a e n d e r and D u g g a r 1936). Beide sollen außer Protei RNS enthalten. Die zweite Gruppe hat eine hohe Empfindlichkeit bei 2650 A. Ihr gehören das Vaccine-Virus (R i v e r s and G a t e s 1928), das Influenza-Virus (H o l l a e n d e r and O l i p h a n t 1944), Staphylococcus-Bacteriophage (G a t e s 1934) und Escherichia coli - Bacteriophage (F l u k e and P o l l a r d 1949) an. Von Vaccine- und Influenza-Virus wird berichtet, daß sie hauptsächlich DNS enthalten.

Das Inaktivierungsspektrum kann nicht generell als identisch mit dem Absorptionsspektrum bestimmter spezifischer Substanzen in den Mikroorganismen interpretiert werden. Dennoch scheint die Annahme berechtigt, daß bestimmte Inaktivierungsspektren der

Wirkung ultravioletter Bestrahlung auf Eiweißkörper zugeordnet werden können. So haben Nucleoproteine ein Maximum der Absorption bei 2650 A, Proteine mit Gehalt an aromatischen Aminosäuren maximale Absorption bei 2800 A und Proteine ohne aromatische Säuren bei < 2650 A (T a m m and F l u k e 1950).

Die Abtötungsrate ist also abhängig von der einwirkenden Wellenlänge. Der zweite entscheidende Faktor ist die Intensität der Strahlung. Sie wird in Microwatt /cm^2 bei einer festgelegten Distanz gemessen. Das Produkt aus Intensität und Zeit ergibt die Sterilisierungsdosis. Diese wird gewöhnlich angegeben als Dosis, die erforderlich ist, um einen bestimmten Abtötungsprozentsatz zu erreichen und wird gemessen in Microwatt-Sekunden /cm^2 oder erg /cm^2 (10 erg = 1 Microwatt-Sekunde). Es gibt verschiedene Methoden, die Strahlenintensität zu messen. Meist werden speziell UV sensitive Photozellen verwendet. Eine andere Methode bedient sich der Bestimmung der Fluoreszenz an Zinksilikat.

Im allgemeinen liegt die Dosis, die erforderlich ist, um 90% der meisten Mikroorganismen abzutöten, bei 2000 bis 5000 Microwatt-Sekunden /cm^2 (H o l l a e n d e r 1942). Damit könnte die Strahlenintensität einer 15 Watt-Lampe in 30 cm Distanz bei 400 Microwattsek./cm^2 ausreichend seim, nach einer Einwirkungszeit von 13 Sek. 90% Abtötung in den meisten Fällen zu erzielen.

Für die erforderliche Sterilisierungsdosis sind neben der Art der Organismem die Bedingungen, unter denen die Sterilisation erfolgt, von Bedeutung. Da die Durchdringungsfähigkeit der UV-Strahlen in festen Stoffen gleich Null ist, und auch Lösungen nur sehr geringfügig penetriert werden, ergibt sich , daß nur Oberflächen effektiv sterilisiert werden können. So berichten W e l l s and W e l l s (1936), W h i s l e r (1940) und K o l l e r (1939), daß Luftkeime bei relativ hoher Luftfeuchtigkeit zehnmal so resistent gegenüber den einwirkenden Strahlen sind als bei niedriger Luftfeuchtigkeit. Nach Koller's Untersuchungen sind weiterhin Luftkeime weniger resistent gegenüber UV als gleichartige Bakterien auf Agarnährboden. W e l l s (1940) konstatiert, daß Luftkeime über zwanzigmal weniger resistent sind als solche in flüssigen Suspensionen. R e n t s c h l e r and N a g y (1941) jedoch berichten von gleicher

Empfindlichkeit für Luftkeime und identische Bakterien auf Nähragar. Sie verneinen den Einfluß der Feuchtigkeit.

Über den letalen Wirkungsmechanismus wird an anderer Stelle ausführlich berichtet.

Zur Erzeugung ultravioletter Strahlen werden Niederdruck - Hg - Dampflampen verwendet. Bei den heißen Kathodenlampen, die meist benutzt werden, liegen 95% der UV-Strahlen in der 2537 A Region. Die Lampen arbeiten bei einer Temperatur von 27 - 40° C, wo sie die höchste Leistung besitzen.

IV. Ionisierende Strahlen

a) Röntgen- und Kathodenstrahlen

Wesentlich stärkere biologische Wirkungen bringen Röntgenstrahlen hervor. Die destruktive Eigenschaft wird ausgenützt bei der Röntgentherapie zur Zerstörung tumorösen Gewebes. Gefürchtet ist die mutationsauslösende Wirkung. Röntgenstrahlen sind ein unentbehrliches Hilfsmittel in der Medizin geworden sowohl auf therapeutischem Sektor als auch in der Diagnostik. Diese Strahlen vermögen alle Stoffe zu durchdringen, und zwar um so leichter, je geringer deren Dichte ist. Das Durchdringungsvermögen steigt mit fallender Wellenlänge. Danach bezeichnet man eine kurzwelligere Strahlung mit größerer Durchdringungskraft als hart und langwellige Strahlen als weich. Der Wellenlängenbereich erstreckt sich etwa von 0,150 bis 660 A. Die den Strahlen ausgesetzten Stoffe haben bestimmte Gebiete besonders starker Absorption innerhalb des Röntgenspektrums.

Röntgenstrahlen entstehen durch die Abbremsung von schnellen Kathodenstrahlelektronen beim Auftreffen auf Materie (meist Metalle mit hoher Atomzahl; sog. Bremsstrahlung). Dabei findet eine Umsetzung der kinetischen Elektronenenergie in Strahlungsenergie statt, wobei hauptsächlich Wellenlängen des ultraroten Bereiches erzeugt werden. Nur etwa 0,1 bis 2% bestehen aus der kurzwelligen Röntgenstrahlung. Der Anteil ist variierbar durch die Geschwindigkeit, mit der die Elektronen auf das abbremsende

Material auftreffen und von der Beschaffenheit desselben. Die heutigen Röntgenröhren sind hochevakuiert. Die Kathodenstrahlen werden von einer Glühkathode ausgesandt. Durch Änderung des Heizstromes läßt sich die Menge der abgegebenen Elektronen variieren. Unabhängig davon ist durch eine Verminderung oder Erhöhung der angelegten Spannung die Energie regelbar und damit also die Stärke und spektrale Verteilung der erzeugten Röntgenstrahlen veränderlich. Weiche Strahlen werden erzeugt bei Spannungen bis zu 100 Kilovolt, harte Strahlen mit größerer Durchdringungskraft bei höheren Spannungen.

Die Energieausbeute, die gewonnen wird durch die Bewegung eines Elektrons bei einer Potentialdifferenz von 1 Volt, beträgt 1 Elektronvolt (eV), 1 Mio eV = MeV. Das entspricht der Größenordnung einer Spannung, die für Sterilisationszwecke erforderlich ist. Die Sterilisierungsdosis wird gewöhnlich in rad bzw. Megarad angegeben, wobei 1 rad die Dosis bezeichnet, die einer Absorption des bestrahlten Materials von 100 erg/ g entspricht (1 Megarad = 1 Mio rad).

Obwohl die letale Wirkung ionisierender Strahlen, sowohl Röntgen- als auch kürzerwelligerer Strahlen, schon lange bekannt war, hat man erst in den letzten zwanzig Jahren Anstrengungen unternommen, diese Eigenschaft für Sterilisationszwecke auszunutzen. Das mag zum großen Teil mit dem Aufschwung der Atomforschung in den letzten Jahren zusammenhängen. Zum anderen hat die Entwicklung großtechnisch anwendbarer Apparate dazu beigetragem, die Sterilisation mit Hilfe dieser Strahlen überhaupt durchführbar zu machen. Dabei bedient man sich in steigendem Maße der Kathodenstrahlen. Sie besitzen eine sehr hohe Dosisleistung. Maschinen zur Erzeugung von schnellen Elektronen werden nach der Art der Hochspannungserzeugung in Einfachbeschleuniger und Mehrfachbeschleuniger eingeteilt. Zu den ersteren gehören z. B. der Kaskadenbeschleuniger, Resonanztransformatoren und der Van - de - Graaf - Beschleuniger. Im Prinzip werden bei hohem Spannungspotential Richtstrahlen von der Kathode in einer evakuierten Röhre abgegeben, wobei die Elektronen eine Beschleunigung bzw. eine Zunahme ihrer kinetischen Energie durch elektrostatische oder elektromagnetische Kräfte erfahren. Nachdem sie zu einem schmalen

Bündel geformt sind, erfolgt der Austritt durch ein Fenster in der Röhre. Die Elektronen eines Mehrfachbeschleunigers entnehmen ihren Energiezuwachs einem bewegten elektrischen Feld. Bei beiden Typen werden die Elektronen auf Energien zwischen 0,3 Mio bis 40,5 Mio Volt beschleunigt (P e t e r 1962).

Wie für ultraviolette Strahlen gezeigt wurde, kommt es auch unter der Einwirkung von ionisierenden Strahlen zu einer Vielzahl von Veränderungen. H a b e r l a n d und K l e i n (1921) berichten, daß nach Röntgenbestrahlung von Tuberkelbakterien keine Unterschiede im Wachstum gegenüber den Kontrollen festzustellen waren. Auch R u b i n (1954) fand keine Beeinträchtigung des Wachstums bei E.coli B/r nach kontinuierlicher Bestrahlung mit geringer Dosis. Lediglich eine Verlängerung der lag-Phase wurde registriert. Bei sehr hohen Dosen jedoch verblieben die Kulturen in dieser lag-Phase, und Vermehrung setzte nicht ein. Eine Hemmung der Zellteilung unter kontinuierlicher oder Kurzzeit-Röntgenbestrahlung an E.coli ohne Beeinträchtigung des Wachstums ist von S p o e r l et al (1954) beschrieben worden.

Nach Bestrahlung können Bakterien die Fähigkeit verlieren, Kolonien zu bilden, ohne dabei Beweglichkeit und Atmung einzubüßen (L e a 1946). Verschiedene Autoren beschreiben die mutationsauslösende Wirkung, z.B. Änderung der Virulenz, Kolonieform und -farbe, Verlust bestimmter biochemischer Reaktionen (L e a, H a i n e s and C o u l s o n 1938; H a b e r m a n n 1941; L e a, H a i n e s and B r e t s c h l e r 1941; G w a t k i n 1956).

R i c e and G u i l f o r d (1931) weisen darauf hin, daß durch Behandlung mit Röntgenstrahlen zunächst eine Verschiebung von der rauhen zur glatten Kolonieform auftritt, große Dosen aber zu letalen Effekten führen. S c h e p m a n n und F l e c k e (1926) geben an, daß weiche Röntgenstrahlen Bakterien in wenigen Minuten abtöten, während äquivalente Dosen harter Röntgenstrahlen nur annähernd die halbe Abtötungsrate erreichen. Weiche Strahlen werden früher resorbiert, harte dringen tiefer in die Substanzen ein. H a b e r m a n and E l l s w o r t h (1940) berichten hingegen, daß kurze Wellenlängen (also harte Strahlen)

wirkungsvoller in der Abtötung von Staphylococcus aureus waren als lange Wellen von gleicher Intensität. Für den Abtötungseffekt ist die Wellenlänge der Strahlung von großer Bedeutung. Die letale Wirksamkeit der Strahlen nimmt nach L e a et al (1941) für vegetative Formen in folgender Reihenfolge ab: Beta- und Gamma-Strahlen, harte Röntgen-, weiche Röntgenstrahlen, Neutronen. Nach S t a p l e t o n and M a r t i n (1949b) steigt die erforderliche Dosis, um den gleichen letalen Wirkungsgrad bei trockenen Sporen von Aspergillus terreus zu erreichen, in nachstehender Ordnung an: Gamma-, Röntgenstrahlen, Alpha-Partikel, Neutronen.

b) Gammstrahlen

Medizinische Bedarfsartikel werden in steigendem Maße in Gamma-Bestrahlungsanlagen sterilisiert. Die Kernstrahlung der in Atomreaktoren gewonnenen radioaktiven Isotopen bietet eine wirksame und wirtschaftliche Sterilisationsmethode.

1896 wurde die Radioaktivität entdeckt. Bequerel stellte fest, daß Uran ohne irgendwelche äußeren Einflüsse Strahlen aussendet, die photographische Platten ebenso wie Röntgenstrahlen zu schwärzen vermögen. 1898 fand das Ehepaar Curie neue Elemente mit dieser Eigenschaft (Radium und Polonium). Die von den natürlich - radioaktiven Elementen emitierten Strahlen sind komplexer Art. Sie besitzen teils korpuskuläre Natur, teils sind es kurzwellige elektromagnetische Schwingungen (Photonen). Nach ihrer Ablenkbarkeit im magnetischen Feld unterteilt man sie in :

1. Alpha-Strahlen, eine Teilchenstrahlung aus sehr schnellen Heliumkernen (ca 2 MeV) .
2. Beta-Strahlen, ebenfalls eine Teilchenstrahlung aus sehr schnellen Elektronen mit kinetischen Energiewerten bis zu 5 MeV .
3. Gamma-Strahlen, eine sehr kurzwellige, elektromagnetische Wellenstrahlung. Die Entdeckung dieser Strahlen gelang Paul Villard 1900. Der Wellenbereich erstreckt sich von ca. 1 A bis 0,00466 A und ist der harten Röntgenstrahlung vergleichbar.

Nur die Gamma-Strahlen sind für die Sterilisation von Bedeutung.

Für die industrielle Anwendung werden große Strahlungsquellen entweder durch Bestrahlung eines Elementes im Neutronenfeld des Reaktors (z.B. Gewinnung von Kobalt 60 durch Bestrahlung vom Kobalt 59) oder durch Trennen eines der Spaltprodukte aus dem Brennstoffelement (z.B. Caesium 137) gewonnen.

Wie bereits für die vorhergehenden Strahlenarten aufgezeigt wurde, kommt es auch unter dem Einfluß der Gammabestrahlung auf organisches Material zu Veränderungen. Diese können morphologischer Natur sein. Für Mycobacterium smegmatis z.B. wurde nach Kobalt-60-Bestrahlung Konglomeratbildung, Auftreten von Blähformen, Kettenbildungen und gekörnte Strukturierung nachgewiesen. In Abhängigkeit von der Dauer der Bestrahlung kann es schließlich zu Einkerbungen und Durchschnürungen kommen. Dabei kann der Charakter der Säurefestigkeit erhalten bleiben (R i t z e f e l d und J e t z e k 1965). Auch sind Eigenschaftsänderungen ohne sichtbaren Verlust morphologischer und färberischer Merkmale nachgewiesen worden, wie eine Verringerung der Virulenz bei Treponema pallidum (M i l l e r 1965).

Die letalen Effekte wurden u. a. von D a v i s et al (1956) an natürlichen Populationen, die Mikroflora einer Baumhöhle, untersucht. Dabei ergab sich eine Abhängigkeit von der Dosis und der Art der bestrahlten Organismen. Streptomyceten besaßen eine größere Resistenz als die meisten anderen Keime.

V. Wirkungsmechanismus

Die Strahlen lösen mannigfache Effekte bei Mikroorganismen aus. Wodurch sind nun die letalen Wirkungen in der Zelle bedingt?

Der letale Wirkungsmechanismus der Strahlen ist noch nicht vollständig aufgeklärt. Ganz allgemein kann man sagen, daß er aus einer Beeinträchtigung des zellulären Stoffwechsels resultiert. Das kann verursacht sein durch einen Zusammenbruch oder durch Veränderungen in der Struktur der essentiellen Zellmetaboliten, wie Aminosäuren, Nucleinsäuren und Proteinkomplexe einschließlich zellulärer Enzyme (S y k e s 1965).

Eigenschaft der ionisierenden Strahlen ist die Energieabgabe durch Ionisation der Atome bei Durchdringung eines Stoffes. Die Ionisation eines Atoms verursacht normalerweise die chemische Veränderung des zugehörigen Moleküls. Zunächst wird mit jeder Energieabgabe durch Strahlung erreicht, daß die absorbierenden Moleküle auf ein höheres Energieniveau gehoben werden, wobei das Ausmaß von der Energie des Strahlenquants abhängig ist. Bei geringen Energien erfolgt eine Anregung, d.h. durch Induktion werden Elektronen in eine höhere Schale gehoben und damit das Molekül aktiver. Bei höherer Energie werden ein oder mehrere Elektronen vom Molekül abgetrennt, so daß ein positiv geladenes Ion entsteht mit einem freien Elektron, welches sich an ein anderes Molekül anlagern kann und dieses in ein positives Ion verwandelt. Bei noch höheren Energien greift das Elektron eine größere Zahl von Molekülen an, ehe es zur Ruhe kommt, so daß Ansammlungen von Ionenpaaren entstehen. Bei Energien über 4 MeV kann der Atomkern beeinflußt werden und ein instabiler radioaktiver Kern entstehen.

Bei der Verwendung schneller Elektronen zu Sterilisationszwecken erfolgen die Anregungs- und Ionisationsvorgänge durch ein Einzelelektron bei einer Verweilzeit von nur 10^{-14}sec. Die biologische Wirksamkeit des strahlenchemischen Vorgangs ist so hoch, daß die meisten lebenden Strukturen schon durch eine Dosis zerstört werden, die weniger als ein Atom unter einer Million Atomen ionisiert (T r u m p 1961).

Diese molekularbiologischen Vorgänge stehen im Vordergrund vieler Betrachtungen und dienen als Ausgangspunkt für eine Reihe von Hypothesen. So werten L e a et al (1941) die letale Aktion der Strahlen als Erzeugung letaler Mutationen. In einer zusammenfassenden Arbeit über physikalische Methoden der Sterilisation von Mikroorganismen hält R a h n (1945) diesen Wirkungsmechanismus für den wahrscheinlichsten, da nach Berechnungen verschiedener Autoren die durchschnittliche Größe eines Gens im Verhältnis zur Zellgröße mit den zur Abtötung eines Organismus nötigen Energiequanten und der experimentell gefundenen Abtötungskurve übereinstimmt.

Auch G r a i n g e r jr. (1947) schließt aus Untersuchungen der Röntgeneffekte an Salmonella typhii auf den gleichen Wir-

kungsmechanismus. R u b i n (1954) bestrahlte E. coli über längere Zeit mit Röntgenstrahlen bis zu 10 000 r/h . Die lag-Phase war verlängert, abhängig von der Dosis; Nucleinsäuregehalt und Wachstum waren ansonsten nicht von unbestrahlten Kontrollen zu unterscheiden. Da die Mutationsrate mit der gleichen Frequenz fortschreitet, gleichgültig ob Zellen sich vermehren oder nicht, schließt er, daß Letalmutationen nur unwesentlich zum totalem Letaleffekt beitragen können. Er diskutiert durch Strahlen hervorgerufene Gifte, welche durch irgendeine Substanz zerstört werden, die während des Wachstums gebildet wird.

Unterschiedliche Überlebenszahlen bei Bestrahlung mit Röntgen- und Gammstrahlen von gleicher Dosis veranlaßten A t w o o d and S t a p l e t o n (1952) zu anderen Überlegungen. Diese Differenz mag der unterschiedlich induzierten Ionendichte durch die zwei Bestrahlungsarten zuzuschreiben sein. In einem einzelnen Bakterium ist die durchschnittliche Ionisationszahl durch ein einzelnes ionisierendes Elektron viel größer für Röntgen- als für Gammastrahlen. Die Autoren schließen, daß keine Notwendigkeit zu der Annahme besteht, es müßte sich für Röntgen- und Gammastrahlen um zwei getrennte Wirkungsorte in der Bakterienzelle handeln. Möglicherweise sind die letalen Effekte durch Stoffe verursacht, die vom Ort ihrer Entstehung diffundieren und mit bestimmten intrazellulären Verbindungen Reaktionen eingehen.

So stand im Mittelpunkt vieler Diskussionen die Frage, ob dem gesetzten Strahlenschaden ein direkter oder ein indirekter Wirkungsmechanismus zugrunde liegt. 1946 vertrat L e a die Treffertheorie der biologischen Strahlenwirkung. Sie basiert auf der Quantennatur der Strahlung und wird gestützt durch die exponentielle Form der Dosis-Wirkungs-Kurve. Der Effekt beruht auf einzelnen Treffern, die zufallsgemäß verteilt sind. Es wird angenommen, daß jede Zelle eine bestimmte sensitive Zone besitzt, und daß ein Treffer zur Inaktivierung genügt. Vorausgesetzt, daß es sich um lebenswichtige Strukturen wie z. B. DNS handelt. Bei den meisten Bakterien ergibt sich eine exponentielle Abtötungskurve. Nur bei wenigen, z.B. einigen Stämmen von E. coli, läßt sich ein mehr sigmoidaler Verlauf feststellen. In solchen Fällen ist zu vermuten, daß die lebenswichtigen Strukturen doppelt oder mehrfach vorhanden und demzufolge entsprechend viele Treffer nötig

sind, die Zelle zu inaktivieren.

A t w o o d and S t a p l e t o n (1952) zogen aus ihren Untersuchungen den Schluß, daß die sensitiven Zonen in den Kernen lokalisiert sind, was auch von N o r m a n (1953) an Aerobacter aerogenes gezeigt wurde.

Die Theorie von der indirekten Strahlenwirkung geht davon aus, daß Diffusionsvorgänge stattfinden. Primär kommt es zur Ionisation von Wassermolekülen in der Zelle, wobei freie H-Ionen, Hydroxylionen und Peroxyde entstehen, die sekundäre Reaktionen in den lebenswichtigen Verbindungen auslösen (D i t t r i c h 1953; S t e i n et al 1956; H o u t e r m a n s 1956; W y s s et al 1948). Experimentell wurde die Spaltung des Wassers in H- und OH - Ionen unter dem Einfluß der Röntgenstrahlen schon 1927 von F r i c k e (nach W a r b u r g 1964) nachgewiesen. Dabei wurde gezeigt, daß in Gegenwart von Sauerstoff mehr Peroxyde gebildet werden als unter anaeroben Bedingungen. Dieser Befund steht in Einklang mit den Untersuchungsergebnissen von H o l l a e n d e r et al (1951) : Die Überlebenszahl der Bakterien nach Röntgenbestrahlung steigt bei Erniedrigung der O_2 - Spannung an. Auch die protektive Wirkung bestimmter chemischer Stoffe (z.B. $Na_2S_2O_4$) beruht auf der Eigenschaft, gelösten Sauerstoff zu binden (B u r n e t t et al 1952).

Obgleich es den Anschein hat, daß viele der biologischen Effekte der ionisierenden Strahlen den Bestrahlungsprodukten des Wassers zuzuschreiben sind und möglicherweise auch anderen Radikalen, sollte in Betracht gezogen werden, daß auch direkte Effekte eine Rolle spielen (P a t t 1953).

Es wird aber allgemein akzeptiert, daß die Inaktivierung durch Strahlen im Gegensatz zur Hitzewirkung nicht auf einer Denaturierung der Proteine beruht (G r a i n g e r 1947; R u b b o 1965).

Von Bedeutung ist die Tatsache, daß ein Strahlenschaden, der zum Verlust der Reproduktion führte, nicht unbedingt den Verlust der metabolischen Aktivität einschließt. Es konnte gezeigt werden, daß bei Staphylococcus aureus die metabolische Aktivität noch geraume Zeit nach der Bestrahlung in nahezu normalem Ausmaß er -

halten bleibt (A h n et al 1964). Auch C o s t i l o w (1962) weist darauf hin, daß größere Strahlungsmengen erforderlich sind, Enzyme zu inaktivieren, als die Lebensfähigkeit der bakteriellen Sporen zu zerstören. So erscheint es durchaus möglich, daß bestrahlte Sporen von Cl. botulinum 62-A nach der Auskeimung noch zur Proteinsynthese fähig sind und dabei in geeignetem Medium signifikante Mengen vom Botulinustoxin produzieren könnten. Vom praktischen Standpunkt aus kommt dem keine Bedeutung zu, da die Menge der Sporen in unbeimpfter Nahrung unrealistisch hoch sein müßte, um Botulismus zu verursachen.

Eine weitere Theorie wurde von B r a c q (1961) (nach S y k e s 1965) entworfen, die auf der Schädigung des Enzymsystems durch Desintegration der intrazellulären Membranen beruht.

K e l n e r (1955) teilt die Vorgänge in einer bestrahlten Zelle in drei Perioden ein: a) die Periode des Beginns schließt die ersten Reaktionen ein, Ionisationen oder Anregungen, b) die mittlere Phase ist die meßbare Zeit zwischen den ersten Reaktionen und den Endeffekten, c) die Endperiode, in welcher sich Veränderungen oder Läsionen der Zelle manifestieren. Die verschiedenen Theorien über den Wirkungsmechanismus werden von ihm diskutiert.

Über den letalen Wirkungsmechanismus der nicht ionisieren Strahlen sind ebenso viele Hypothesen aufgestellt worden wie für die ionisieren Strahlen. Die Energie der ultravioletten Strahlen ist nur sehr viel geringer, und der strahlenchemische Vorgang besteht in einer Anregung der Moleküle. E h r i s m a n n (1930) hält primär Permeabilitätsänderungen der Zellmembran für den Strahlenschaden verantwortlich. L e a and H a i n e s (1940) fanden auch für UV exponentielle Überlebenskurven. Im Vergleich zu der Wirksamkeit der Röntgenstrahlen ergab sich ein viel schwächerer Effekt. Auch Letalmutation, primäre Eiweißdenaturierung, Inaktivierung von Enzymen, indirekte Wirkung durch Bildung von Peroxyden sind diskutiert worden (S t e i n und H a r m 1953).

VI. Schutzwirkung und Reaktivierung

Der letale Effekt von Strahleneinwirkungen ist in den vorhergehenden Kapiteln beschrieben worden. Ein Strahlenschaden kann sich

aber unter bestimmten Bedingungen in einem biologischen System nicht voll auswirken. Verantwortlich dafür können einerseits protektive Maßnahmen sein. Die Überlebenszahl der Organismen kann weitgehend davon abhängen, welchen Bedingungen sie vor der Bestrahlung ausgesetzt waren. So wird bei Bakterienkulturen die Zusammensetzung des Mediums von Einfluß sein, das Wachstumsstadium zur Zeit der Bestrahlung, der Feuchtigkeitsgehalt der Zellem und der Zusatz bestimmter Chemikalien zum Medium. Zum anderen zeigt sich eine Abhängigkeit von der Behandlung unmittelbar nach der Bestrahlung. Den Vorgang einer solchen reversiblen Schädigung bezeichnet man als Reaktivierung. Dieser Effekt hat viel zum Verständnis der Strahlenwirkungen beigetragen und der Theorie vom indirekten Aktionsmodus Vorschub geleistet.

a) Protektion

Die protektiv wirkenden Mechanismen könnten auch im Sinne einer indirekten Strahlenwirkung verstanden werden. Daß der Entzug von Sauerstoff sich als eine Schutzwirkung bei der letalen Strahlenaktion erwiesen hat, wurde bereits erwähnt. Man hat vermutet, daß Sauerstoff die Bildung von Peroxyden begünstigt. Diese Schutzwirkung ist einmal durch Erniedrigung der Sauerstoffspannung nachgewiesen (H o l l a e n d e r, S t a p l e t o n and M a r t i n 1951), zum anderen durch Zugabe reduzierender Verbindungen vor der Strahlenaussetzung, wie $Na_2S_2O_4$. Weniger verständlich erscheint der protektive Mechanismus bei Zugabe von Ca^{++}Ionen (J a y s o n 1965) und Natriumazid (NaN_3) (B e r g e r et al 1953). H o l l a e n d e r and S t a p l e t o n (1953) halten es auch für möglich, daß die Schutzwirkung von sulfhydrilhaltigen Verbindungen wie Cystein, niederen Alkoholen, Carboxylsäuren, Aminosäuren und Glucose durch Sauerstoffentzug bedingt ist. H u n t (1964) konnte Protektion gegenüber UV - Bestrahlung bei Hefezellen durch eine Reihe von Aminosäuren nachweisen. Dabei ergab sich, daß heterocyclische und aromatische Aminosäuren wirkungsvoller waren als die aliphatischen. Er vermutet aus der Verschiedenheit der Verbindungen und auch aus den quantitativen Differenzen in der Schutzwirkung verschiedenartige Aktionsmodi. P e a c o c k and N a k a m u r a (1963) haben den Schutzeffekt von Uracil, Adenin, Nikotinsäure, Adenosintriphosphat u. a. bei Shigella sonnei nach-

gewiesen. Sie halten eine Interpretation in dem Sinne für möglich, daß es sich bei diesen Verbindungen um starke Absorber des UV – Lichtes handle, welche die letalen Wellenlängen z.T. eleminieren.

Während es sich bei der Protektion um eine Maßnahme vor der Strahlenaussetzung handelt, beruht die Reaktivierung auf einer Behandlung nach der Strahleneinwirkung. Es sind eine Reihe von Reaktivierungsmöglichkeiten bekannt, unter denen folgende hier angeführt werden.

1. Reaktivierung durch Licht (K e l n e r 1949)
2. Dunkelreaktivierung (C h a r l e s et al 1956)
3. Hitzereaktivierung (A n d e r s o n 1951)
4. Metabolische Reaktivierung (H e i n m e t s 1953)

b) Photoreaktivierung

Eine Fülle von Literatur beschäftigt sich mit der Photoreaktivierung (J a g g e r 1958).

K e l n e r berichtete 1949 erstmals, daß ein durch ultraviolette Strahlen geschädigtes biologisches Material durch sichtbares Licht reaktiviert werden kann. Aber schon 1936 beschrieb P r a t Phänomene ähnlich der Photoreaktivierung. Heute versteht man unter Photoreaktivierung die Restauration eines durch UV gesetzten Schadens in einem biologischen System durch Licht größerer Wellenlängen als die der schädigenden Strahlen. Dieser Bereich ist entweder noch dem ultravioletten Anteil zugehörig oder dem sichtbaren Wellenspektrum. Die letale Wirkung ist für einen relativ breiten Teil des UV-Spektrums an einer großen Anzahl von Mikroorganismen nachgewiesen worden (Z e l l e et al 1955). Aber nur ein ziemlich kleiner Wellenbereich ist geeignet, einen Schaden hervorzurufen, der photoreaktivierbar ist. Dieser Teil des inaktivierenden Lichtes erstreckt sich von 2180 A bis 3130 A. Eine Schädigung, die mit Wellenlängen unterhalb 2180 A gesetzt wurde, ist nur noch gering reaktivierbar, hingegen wirkt der ultraviolette Anteil oberhalb 3130 A selbst photoreaktivierend (W e l l s and G i e s e 1950; K i m b a l l and G a i t h e r 1951). Inaktivierung im Bereich von 2400 bis 2900 A liegt auf gleichem Reaktivierungsniveau.

Nach Röntgenbestrahlungen konnte Photoreaktivierung nicht nachgewiesen werden (D u l b e c c o 1950; W a t s o n 1950; L a t a r j e t 1954; T o b i n 1953). Es scheint, daß durch Ionisationen verursachte Schädigungen nicht photoreaktivierbar sind. Im Bereich von 3130 A bis 5496 A sind Photoreaktivierungseffekte nachgewiesen worden : K e l n e r (1951) zeigte dieses Phänomen bei Wellenlängen von 3650 bis 4940 A mit einem Maximum bei 4358 A an Streptomyces griseus, von 3650 bis 4740 A an E.coli. S t u y (1955) konnte mit 3650, 4047 und 4358 A Bac.subtilis und Bac. cereus photoreaktivieren. J a g g e r and L a t a r j e t (1956) wiesen diesen Reaktivierungseffekt bei E.coli B/r mit 3130 bis 4660 A nach, wobei das höchste Ausmaß bei 3130 bis 4200 A registriert wurde.

Die Photoreaktivierung ist eine universelle Erscheinung. Sie beschränkt sich nicht nur auf die Umkehr letaler Effekte. Auch eine Erniedrigung der Mutationsrate unmittelbar nach der UV-Schädigung durch Einwirkung sichtbaren Lichtes wurde nachgewiesen (S n y d e r - B r o w n 1951; N e w c o m b e and W h i t e h e a d 1951). Eigenschaften, die photoreaktivierbar sind, schließen ferner ein: Enzymsynthese, Pigmentation und Transformation (R u p e r t 1962). Experimente wurden nicht nur mit Bakterien unternommen, auch Eier von Seeigeln, Protozoen, Pilze u.a. dienten als Untersuchungsmaterial. Die einzelnen Organismen zeigen unterschiedliche Reaktivierungsspektren. Auch unterschiedliche Ansprechbarkeit wird registriert. So fand G o u c h e r et al (1956) große Unterschiede in der photoreaktivierbaren Eigenschaft verschiedener Stämme innerhalb einer Art von Azotobacter. E l d e r and B e e r s (1965) konnten für Micrococcus lysodeicticus keinen Erholungseffekt durch langwelliges Licht nachweisen. Ebenso fand J o h n s o n et al (1950) keine Reaktivierbarkeit bei Bac. cereus; B e l l a m y and G e r m a i n (1955) dergleichen bei Streptococcus faecalis und Str. lactis. Dieses uneinheitliche Verhalten wird von J a g g e r (1958) diskutiert. Möglicherweise sind Mediumsbedingungen von entscheidender Bedeutung. Nachweislich hat der Aggregatzustand Einfluß auf die Reaktivierbarkeit. Während Inaktivierung durch UV auch unterhalb des Nullpunktes bei E. coli gezeigt werden konnte, scheint die Photo-

reaktivierbarkeit an die flüssige Phase gebunden zu sein. Wurden die inaktivierten Keime im Gefrierstadium dem Reaktivierungsspektrum ausgesetzt, war der erwartete Effekt nicht zu erzielen. Die Inaktivierung wurde sogar verstärkt (H e i n m e t s and T a y l o r 1951). Aber auch in der flüssigen Phase ist die Schädigung nur wenige Stunden nach der Bestrahlung reversibel. W e a t h e r w a x (1956) gibt die Zeit mit zwei bis vier Stunden an. Nach K e l n e r (1949) nimmt die Fähigkeit der Erholung exponentiell mit der Inkubationszeit ab und erreicht den Nullpunkt nach zwei bis drei Stunden.

Aus der Gleichheit der Form der Dosis-Überlebenskurven von UV-bestrahlten Bakteriensuspensionen, die teils in Dunkelheit gehalten, teils photoreaktiviert wurden, entwickelte K e l n e r das Dosis-Reduktionsprinzip. Der Effekt einer konstanten Menge reaktivierenden Lichtes auf das Überleben in einer Bakteriensuspension, die mit variierenden Mengen UV bestrahlt wurde, ist vergleichbar einer effektiven UV - Dosis, die um einen konstanten Faktor vermindert wird.

Als Ort der Absorption des photoreaktivieren Lichtes wird die Chromophore angegeben. Es besteht Grund zu vermuten, daß in einer Zelle mehrere Chromophoren existieren. Wenngleich über ihre Natur wenig bekannt ist, erscheint es aus der Vielzahl der Photoreaktivierungseffekte durchaus möglich, daß es sich um verschiedene Moleküle handelt, wie DNS, RNS, Porphyrine, Riboflavine, Pyridoxalphosphat. Allgemein läßt sich sagen, daß der reaktivierbare Ort eine spezielle Struktur in der Zelle darstellt, an der sich der photoreaktivierbare UV-Schaden manifestiert.

Dunkelreaktivierung:

C h a r l e s and Z i m m e r m a n n (1956) machten die Beobachtung, daß UV-bestrahlte E. coli Stamm B sich teilweise von den letalen Bestrahlungseffekten erholten, wenn man sie bei Dunkelheit in physiologischer Kochsalzlösung inkubierte. Sie nannten dieses Phänomen Dunkelreaktivierung und stellten fest, daß durch Temperaturen bis zu 30° C der Effekt positiv beeinflußt wird. Allenfalls ist bei der Dunkelreaktivierung ein größerer Zeitraum erforderlich, um den gleichen Wirkungsgrad zu erreichen, wie bei Anwendung von Licht. Möglicherweise ist die Dunkelreaktivierung

als ein Prozeß denkbar, der durch sichtbares Licht nur beschleunigt wird. N a k a m u r a and R a m a g e (1963) berichteten, daß das Ausmaß der Erholung von UV-bestrahlten Shigella sonnei bei Aussaat auf einem synthetischen Medium größer war als auf Komplexmedium und deuteten die Befunde in dieser Richtung. Sie diskutieren die Möglichkeit, daß Zellwachstum auf dem chemisch definierten Medium langsamer einsetzt als auf Komplex-Nährboden. Dabei stände den Zellen ein größerer Zeitraum für die Erholung vom Strahlenschaden zur Verfügung.

c) Hitzereaktivierung

Auch durch Temperatureinwirkungen sind Reaktivierungseffekte erzielbar. A n d e r s o n (1949b) untersuchte UV-inaktivierte E. coli unter diesem Aspekt und fand, daß nur Stamm B hitzereaktivierbar ist, nicht aber B/r, während beide Stämme auf Reaktivierung mit sichtbarem Licht gut ansprechen. Vergleichswerte der Kulturen von E. coli Stamm B auf Nähragar, die bei 30° C und 37° C inkubiert wurden, ergaben ein zwanzigfaches Anwachsen der Überlebenszahl bei der höheren Temperatur. Inkubation bei 40° C führte zu einem vierhundertfachen Überlebenswert. Das Ausmaß der Reaktivierung bei einer 10° C - Differenz in der Inkubationstemperatur liegt dem der Photoreaktivierung sehr nahe. Bis zu 45° C waren ansteigende Reaktivierungseffekte zu verzeichnen (S t e i n und M e u t z n e r 1950). Der von K e l n e r eingeführte Dosis-Reduktions-Faktor findet wie für die Photoreaktivierung auch für die Wärmereaktivierung Anwendung und bezeichnet hier den Faktor, um welchen die effektive Dosis bei der Reaktivierungstemperatur gegenüber einer Bezugstemperatur reduziert ist.

Eine Temperaturnachbehandlung von E. coli B/r, die durch Röntgenstrahlen inaktiviert waren, führte zu keinem meßbaren Wert, während bei den B - Zellen ein ganz geringer Reaktivierungseffekt verzeichnet werden konnte (A n d e r s o n 1951). Anderson fand weiterhin, daß auch eine Hitzereaktivierung nur innerhalb eines bestimmten Zeitraumes nach der Strahleneinwirkung möglich ist. L a n g e n d o r f und S o m m e r m e y e r (1953) erzielten, wenn sie die Keime bei niedrigen Temperaturen aufbewahr-

ten, selbst 90 Minuten nach der Strahleneinwirkung noch einen vollen Reaktivierungseffekt. Jedoch schon bei Keimen, die bei 24° C gehalten wurden, war ein schneller Rückgang der Reaktivierungsrate zu verzeichnen. Und bereits zwei Stunden nach der Bestrahlung konnte kein Effekt mehr registriert werden.

Nach St e i n und H a r m (1955) scheint zwischen bestimmten inaktivierenden Wellenlängen und der Hitzereaktivierbarkeit eine Beziehung zu bestehen. Ihre Untersuchungen ergaben, daß Inaktivierung von E. coli Stamm B mit Wellenlängen von 2540 A bis 3130 A stark hitzereaktivierbar ist, während bei Anwendung vom Wellenlängen zwischen 3340 A und 3660 A und über 5600 A keine oder nur sehr geringe Hitzereaktivierbarkeit resultierte. Das Inaktivierungsspektrum zwischen 2540 und 3000 A ähnelt stark dem Absorptionsspektrum der Nucleinsäuren. Durch diesen Spektralbereich inaktivierte Keime zeigen sowohl Wärme- als auch Photoreaktivierbarkeit. Diese Unterschiede und auch Unterschiede in der Reaktivierbarkeit von Schäden, die durch UV- und Röntgenstrahlen erzeugt werden, legen den Schluß nahe, daß sowohl mit UV- als auch mit Röntgenstrahlen reversible und irreversible Schädigungen zu erzielen sind. Während bei den UV-Strahlen die reversiblen Schäden im Vordergrund zu stehen scheinen, überwiegen bei den Röntgenstrahlen die irreversiblen Schädigungen (L a n g e n d o r f und S o m m e r m e y e r 1953).

d) Metabolische Reaktivierung

Als Kriterium für die Erholung der Zellen dient in allen Strahlenexperimenten die zurückgewonnene Fähigkeit, sich in einem normalen Kulturmedium zu vermehren. Der Reaktivierungseffekt einer Behandlung nach der Strahleneinwirkung läßt sich am Verlauf der Überlebenskurven leicht ablesen. H e i n m e t s (1953) registrierte eine weniger steil abfallende Kurve im Vergleich zu unbehandelten Kontrollen, wenn er nach der UV-Bestrahlung E. coli bei 37° C für 24 Stunden in einer gepufferten Natriumpyruvatlösung inkubierte und dann aussäte. 1951 stellten T h o m p s o n und Mitarbeiter Pyruvat ebenfalls in den Mittelpunkt ihrer Experimente über Strahlenschutzwirkungen und kamen dabei zu folgenden Ergebnissen:

Die Anwesenheit von Pyruvat während UV- und Röntgeneinwirkung bietet einen gewissen Schutz gegen die letale und mutationsauslösende Aktion der Strahlen. Kein signifikanter Effekt zeigt sich, wenn Pyruvat nach der Strahlenaussetzung der Suspension zugefügt wird oder im Kulturmedium vorhanden ist. Bei weiteren Untersuchungen gelangten H e i n m e t s et al (1954) zu dem Schluß, daß verschiedene Stoffwechselprodukte in der Lage sind, eine Reaktivierung zu verursachen. Inkubation von UV-bestrahlten E. coli B/r mit verschiedenen Metaboliten führte zu einem unterschiedlichen Anwachsen der Zellzahl. Dabei wurde der größte Effekt für die Verbindungen registriert, die zum Zitronensäure - cyclus gehören. Die metabolische Reaktivierung ist durch die Temperatur zu beeinflussen und am wirkungsvollsten bei 37° C . Ausserdem besteht eine Beziehung zwischen der Reaktivierungsrate und der Inkubationszeit. Die mutmaßliche Erholungszeit der Zellen beträgt 17 Stunden. Der günstigste pH liegt im neutralen Bereich. Während H e i n m e t s et al (1953) die Metabolite den Pufferlösungen zusetzten, in denen sie die Keime suspendierten, ehe sie auf ein Kulturmedium ausgesät wurden, fügten E l l i s o n et al (1955) Natriumazetat direkt dem Nähragar bei. Der Grad der Reaktivierung ergab sich als direkt proportional der Azetatkonzentration bis zu einem Maximum von 25 mg/ml .

R o b e r t et al (1949) machten die Beobachtung, daß bestrahlte Bakterien weniger lebensfähig waren, wenn sie auf Difco - Agar inkubiert wurden, als wenn man sie auf synthetischem Medium (M-9) aussäte. Keine Unterschiede zeigten sich bei Verwendung der entsprechenden flüssigen Medien. S t a p l e t o n (1955) untersuchte das Ausmaß der Erholung bei E. coli B/r von ionisierenden Strahlenschäden auf Minimalmedium und bei Zusatz von Hefeextrakt. Die Überlebensrate war bei letzterem bedeutend größer als bei Minimalmedium. Er schloß daraus, daß zur Reaktivierung bestimmte Nährstoffe benötigt und von den Bakterien neue Enzyme gebildet werden. B i l l e n and H e w i t t (1965) zeigten anhand der Chromosomenverdoppelung mit radioaktiv markierter DNS den Effekt von Aminosäuren bei röntgeninduzierten Aminosäure-Mangel-Mutanten. Zur Wiederherstellung der linearen Chromosomenverdoppelung ist die Synthese eines Proteins nötig.

VII. Sterilisation mit Strahlen

a) Sterilisationsmodus und -dosen

Die Strahlensterilisation folgt wie andere Sterilisationsmethoden bestimmten Gesetzmäßigkeiten. Wie in einem vorhergehenden Kapitel erwähnt wurde, gibt es neben der exponentiellen Abtötungskurve eine sigmoidale Form. Sie wird im Rahmen der Treffertheorie als multimolekulare Reaktion gewertet. Für die meisten Bakterien ergibt sich ein exponentieller Kurvenverlauf, nur wenige repräsentieren die sigmoidale Form. Bei den Sporen sind beide Typen anzutreffen. Nach W o e s e (1959) scheint ein höherer Gehalt an Dipicolinsäure für die sigmoidale Kurvenform verantwortlich zu sein.

Trägt man den Logarithmus der Überlebenszahl gegen die Zeit der Einwirkung des sterilisierenden Agenz auf, so kann ein exponentieller Kurvenverlauf (für die Mehrzahl der Bakterien) registriert werden unabhängig davon, ob es sich um die Einwirkung von Hitze, Strahlen oder anderen Sterilisationsmitteln handelt. Aus der Form läßt sich schließen, daß dabei eine monomolekulare Reaktion vorliegt. Der Abfall der Kurve wird durch die Geschwindigkeitskonstante k ausgedrückt. Sie ist definiert als $k = \frac{1}{t} \log_{10} \frac{No}{Nt}$ (t = Zeit, No = Ausgangszahl der Organismen, Nt = Zahl der Überlebenden nach der Zeit t). Als Maß für die Abtötungsrate wird der D-Wert angegeben (Dezimal-Reduktionszeit). Das ist die Zeit, die erforderlich ist, um 90% der Keime abzutöten.

Der Inaktivierungsfaktor ist ein Maß für die Reduktion der Keime bei einem bestimmten Sterilisationsprozeß. So besitzt z. B. bei einem Inaktivierungsfaktor von 10^7 jeder Organismus die Wahrscheinlichkeit 10^{-7} die Behandlung zu überleben. Zur Bestimmung des Faktors verwendet man hochresistente Testorganismen.

Der Grad der Keimverminderung ergibt sich aus Inaktivierungsfaktor dividiert durch die Zahl der Organismen pro Artikel. Beträgt z.B. der Inaktivierungsfaktor für einen bestimmten Prozeß 10^7, und Artikel I ist durchschnittlich mit 10 Organismen infiziert, so ergibt sich der Grad der Keimverminderung für diesen Artikel mit $10^7 : 10 = 10^6$, d.h. daß in jeder Million sterilisierter Ar-

tikel ein unsteriler enthalten ist, eine tolerierbare Zahl. Wird hingegen Artikel II mit einer Kontamination von 10^5 Organismen in der gleichen Weise einer keimabtötenden Maßnahme unterzogen, so findet sich bei jedem Hundertsten ein unsteriler Artikel. Dieses Risiko ist in der Praxis nicht mehr akzeptabel. Ein Minimum an lebenden Keimen und damit ein ausreichendes Maß an Sicherheit kann durch Verlängerung der Sterilisierungszeit oder Erhöhung der Intensität erreicht werden (R u b b o et al 1965).

G u n t e r und K o h n (1956) untersuchten den Einfluß der Zellkonzentration verschiedener Mikroorganismen auf die Wirkung von Röntgenstrahlen. Sie fanden, daß die Abtötungsrate bis zu bestimmten Konzentrationen gleich bleibt, jedoch bei größeren Initialkonzentrationen sich die LD_{50} erhöhte. Bei E. coli z.B. um den Faktor 2 ab Konzentrationen $> 2 \times 10^9$. Wurden die Suspensionen mit Luft oder Sauerstoff geschüttelt, war dieser Effekt aufgehoben. Sie schlossen daraus, daß eine Abnahme der O_2 -Spannung in den konzentrierten Zellsuspensionen für die Verminderung der Sensitivität verantwortlich zu machen ist. Eine Abhängigkeit der Sterilisierungsdosen vom Inokulum fanden auch K e m p e et al (1954). Die benötigte Energie für die Strahlenbehandlung von Rindfleischkonserven stieg von $2{,}5 \times 10^6$ auf 4×10^6 rep bei einer Zunahme der Sporenkonzentration (Cl. botulinum) von 0,4 auf 40 000 Sporen pro Gramm Fleisch. F r a m et al (1950) konnten keine Abhängigkeit der Sterilisierungsdosis von der Anfangskonzentration feststellen.

Welche Dosen sind erforderlich, eine ausreichende Sicherheit zu gewährleisten ?

Wie bereits ausgeführt, zeigt sich eine Abhängigkeit vom Initialgehalt des Sterilisationsgutes an einzelnen Populationen. Der zweite Faktor, welcher die erforderliche Sterilisationsdosis bestimmt, ist die unterschiedliche Sensibilität der Organismen. S c h a r p (1939) bestimmte in quantitativen Untersuchungen die erforderliche UV-Energie, um 90% der verschiedenen Mikroorganismen abzutöten. Er verwandte dabei unfiltrierte Strahlen einer Quecksilberdampflampe, wobei 85% der Wellenlängen bei 2637 A lagen. 168 erg/mm^2 waren erforderlich, um nicht Sporen bildende

Organismen (Shigella paradysenteria) auf 10% zu reduzieren, 337 erg/mm^2 für Corynebacterium diphtheriae und für eine Mischung von vegetativen Formen und Sporen von Bacillus anthracis 452 erg/mm^2 . (10 erg = 1 Microwattsec /cm^2)

Tabelle 1 gibt einen Überblick über UV-Dosen für verschiedene Mikroorganismen.

Die dritte Komponente, durch welche die Sterilisierungsdosis bestimmt wird, sind die Umweltbedingungen. Unter anaeroben Verhältnissen z. B. oder im gefrorenen Zustand sind wesentlich höhere Dosen erforderlich als bei normaler Temperatur oder in sauerstoffhaltiger Atmosphäre. Die Dosis der ionisierenden Strahlen wird in Mrad gemessen. (1 Mrad = 10^6 rad ; 1 rad = Dosis, die der Absorption von 100 erg/g des bestrahlten Materials entspricht).

Tabelle 2 zeigt gebräuchliche Sterilisierungsdosen mit ionisierenden Strahlen für eine Reihe von Mikroorganismen.

Es wurde angenommen, daß bei der Anwendung der Gammstrahlen zur Nahrungskonservierung 2,5 Mrad und ein Inaktivierungsfaktor von 10^6 ausreichend sind. C h r i s t e n s e n and S e h e s t e (1964) erklären eine Bestrahlung mit 2,5 Mrad für unzureichend. Wenn Streptococcus faecalis und Bacillus subtilis in proteinhaltigem Milieu getrocknet waren, erhöhte sich ihre Resistenz gegenüber ionisierender Bestrahlung, resultierend in einem Inaktivierungsfaktor von 10^2 bis 10^3 . Als Minimum werden 4,5 Mrad gefordert. K e m p e and G r a i k o s k i (1962) gaben an, daß annähernd 4 Mrad erforderlich waren sowohl rohes als auch gekochtes Rindfleisch, das mit Cl.botulinum infiziert war, zu sterilisieren. In den technischen Grundlagen für die Legislatur der Nahrungskonservierung durch Strahlen fordert auch das Komitee FAO/IAEA/WHO (1964) eine Dosis von über 4,5 Mrad, um die Gefahr einer Intoxikation durch Cl. botulinum auszuschließen. Cl. botulinum ist der radioresistenteste Sporenbildner, und die erforderliche Strahlendosis müsse danach bestimmt werden.

T a r p l e y et al (1953) ermittelten Sterilisierungsdosen mit Gammastrahlen für verschiedene Mikroorganismen. Bei initialer

Inokulation von 0,1 X 10^9 Organismen waren Strahlendosen zwischen 2,7 und 3,2 Megarep erforderlich. Von den untersuchten Mikroorganismen zeigte sich Clostridium sporogenes als am meisten resistent. Die Sterilisierungsdosen für eine bestimmte Abtötungsrate unterschieden sich nicht bei Anwendung hoher Intensität und kurzer Expositionszeit und längerdauernder Bestrahlung mit geringer Intensität.

b) Mikrobielle Sensitivitätsunterschiede gegenüber Strahlen

Wie an anderer Stelle erwähnt wurde, ist die Sensitivität von verschiedenen Faktoren abhängig: atmosphärische Bedingungen, Aggregatzustand der Organismen, Zusammensetzung und pH des Mediums, Bestrahlungsart, Alter der Kultur. Von G e i s s l e r (1892) wurde eine günstige Beeinflussung der Abtötungsrate durch erhöhte Temperatur beschrieben, jedoch muß dieser Effekt wohl als Summierung der Schädigungen gedeutet werden. R e n t s c h l e r et al (1941) konnten unter Ausschluß einer möglichen Hitze- oder Kälteschädigung keinen Temperatureinfluß auf die letale Wirkung der UV-Bestrahlung nachweisen. Sie fanden jedoch, daß die Widerstandsfähigkeit gegenüber der UV-Einwirkung in großem Maße von den unterschiedlichen Wachstumsphasen der Organismen abhängig ist. Auch Unterschiede innerhalb einer Art, im gleichen Wachstumsstadium, wurden registriert. Übereinstimmend berichten H o u t e r m a n s (1953) für UV und S t a p l e t o n in K e l n e r (1955) für ionisierende Strahlen von einem Ansteigen der Sensibilität bei Eintritt in den Wachstumszustand. Stapleton spricht von dreistufigen Veränderungen der Resistenz: ansteigende Resistenz in der lag-Phase, rapider Abfall in der log-Phase, erneutes Anwachsen bis zur Ausgangsresistenz während der stationären Phase. Im Gegensatz dazu beschreiben L e a et al (1937), daß die Abtötungsrate von Escherichia coli in wässriger Lösung mit Gammastrahlen in der lag-Phase größer war als in der log-Phase.

Die Widerstandsfähigkeit läßt sich durch Vorbehandlung mit Strahlen erhöhen. L u k i e s c h and K n o w l e s s (1948) berichten, daß bestrahlte Kulturen vom E. coli eine größere Resistenz gegenüber UV aufwiesen als unbehandelte Kontrollen. Z a m e n h o f et al (1965) konstatieren ebenfalls eine Erhöhung

der Widerstandsfähigkeit gegen UV-Strahlen, wenn die Kulturen (Bac. subtilis) wiederholt subletalen Dosen ausgesetzt waren. Sie deuten diese Befunde als Anreicherung einer verstärkt UV-resistenten Mutante. Aus den Untersuchungen über die Sensitivität verschiedener Stämme von Bac. subtilis gegenüber ionisierender Bestrahlung schlossen sie, daß der Ort für die Sulfonamidresistenz (die Produktionsstätte für Paraaminobenzoesäure) eine von den Zonen ist, die für die Strahlenresistenz verantwortlich sind.

Die größte Variable ist in den Arten selbst gelegen. Auch innerhalb einer Art finden sich bei den verschiedenen Stämmen Resistenzunterschiede (A n n e l i s and K o c h 1962). Allgemein sind vegetative Organismen empfindlicher als Sporen, gram-positive resistenter als gram-negative. G ä r t n e r (1944 - 48) gibt an, daß bei Einwirkung des Gesamtspektrums einer Hanauer-Hg-Dampflampe gram-negative Bakterienarten nach 15 bis 20 Sekunden größtenteils abgetötet waren, gram-positive Bakterienkulturen und Sporensuspensionen erst nach 1 bis 2 Minuten. Bakteriensporen sollten ebenso schnell abgetötet werden wie vegetative Formen. Auch von D u g g a r and H o l l a e n d e r (1934b), H e r c i k (1936) wird bestätigt, daß bakterielle Sporen nur wenig resistenter als vegetative Keime waren. Eine andersartige Meinung wird von M c C u l l o c h (1945) vertreten. Er behauptet, daß bakterielle Sporen eine zehnfach längere Aussetzungszeit brauchen als vegetative Formen, um das gleiche Ausmaß der Abtötung zu erreichen, und Schimmelpilzsporen sogar die fünfzigfache Zeit erfordern. Auch aus S c h a r p 's (1939) Untersuchungen geht hervor, daß die zur Abtötung von Sporen (Bac. subtilis, Bac. megatherium) benötigte Energie zweimal so hoch war wie für vegetative Organismen. Die Sensitivität bakterieller Sporen in Pufferlösung wurde von P r o c t o r and G o l d b l i t h (1951) untersucht.

Für Influenza-Virus fand W e l l s (1955) die gleiche Empfindlichkeit wie für vegetative Bakterien. M c C u l l o c h (1945) hingegen erklärte die Viren für extrem resistent. D u g g a r and H o l l a e n d e r (1934) fanden, daß das Tabakmosaikvirus resistenter war als Sporen von Bac. subtilis oder B. megatherium. Sie berichten, daß die Energiewerte, die zu einer hundertprozentigen Abtötung von Bakterien führten, weit unter den Werten lagen,

die bei Viren (Tabakmosaikviren) auch nur den kleinsten meßbaren Effekt zeigten. Die Resistenzrate der Viren gegenüber Bakterien wird mit 200 : 1 angegeben.

D a v i s (1963) entdeckte einen extrem strahlenresistenten pigmentbildenden Coccus, der dem von A n d e r s o n et al (1956) isolierten Micrococcus radiodurans vergleichbar ist. Möglicherweise ist für die Resistenz dieses vegetativen Organismus das Pigment verantwortlich. Erdkeime von Azotobacter wiesen eine sehr viel größere Resistenz gegen Gammstrahlen auf als solche, die auf Labormedium gewachsen waren (V e l a and W y s s 1965).

Quantitative Vergleiche von fünfzehn Bakterienarten von Nahrungskontaminanten, die ionisierenden Strahlen ausgesetzt wurden, ergaben für S. typhi, S. paratyphi und S. wichita die höchste Resistenzstufe mit minimalster Letaldosis (MDL) von 5 x 10^5 rad. Shigella sonnei zeigte eine MLD von 4 x 10^5 rad, S. paradysenteria und S. dysenteria MDL von 3 x 10^5 rad, E. coli 6 x 10^5 rad, M. catarrhalis 4 x 10^5 rad. S. pullorum war am meisten sensitiv mit MLD von 3 x 10^5 rad (D y r e r et al 1966).

Der Resistenzmechanismus ist nicht vollständig geklärt: R a h n (1945) sieht die unterschiedliche Empfindlichkeit allein in der Größe der Organismen begründet. S y k e s (1965) diskutiert Konstitutionsdifferenzen, die für die Sensibilitätsunterschiede verantwortlich sein könnten. Untersuchungen an E. coli B und E. coli B/r unter kontrollierten Sauerstoffkonzentrationen konnten keinen Aufschluß über die Ursache der Differenz in der Radiosensitivität dieser beiden Stämme geben (S o e s t b e r g e n 1965).

Obgleich die Faktoren, welche die Radiosensibilität beeinflussen, bekannt sind, muß die Forderung erhoben werden, daß die exakte Sterilisationsdosis für jedes spezifische Material (Drogen, medizinische Bedarfsartikel, Nahrung) unter den Bedingungen des kommerziellen Prozesses bestimmt wird.

Für die Prüfung der Wirksamkeit der Sterilisation gibt es drei Möglichkeiten. Bei der Testung einer bestimmten Anzahl sterilisierter Artikel wird auf statistischem Wege auf die Keimfreiheit des gesamten Sterilisationsgutes geschlossen. Weitere Möglichkeiten

sind Indikatortests und bakteriologische Prüfmethoden.

c) Anwendung der Strahlensterilisation

Der Begriff "Sterilität" schließt eine absolute Keimfreiheit ein. Diese Forderung ist nicht in allen Fällen zu verwirklichen. Bei der Anwendung ultravioletter Strahlen beschränkt sich der Effekt auf eine Verminderung der Keimzahl. UV-Strahlen finden breiteste Verwendung zur Desinfektion der Luft. In Hospitälern, Operationsräumen, Forschungslabors und Industriebetrieben, wo Manipulationen eine möglichst geringe Kontamination verlangen, haben sich diese Strahlen als sehr effektiv erwiesen. Wegen der abnehmenden Wirksamkeit mit zunehmender Distanz erscheint es sinnvoll, UV-Bestrahlung in Verbindung mit einem Luftumwälzer durchzuführen. Auch zur Entkeimung des Trinkwassers eignet sich diese Strahlenquelle auf Grund der relativ guten Durchdringungsfähigkeit in klarem Wasser. Die Effektivität ist dabei abhängig vom Trübungsgrad (S c h m i d t et al 1954). Oberflächen werden ebenfalls wirkungsvoll entkeimt. So können die UV-Strahlen zur Entkeimung von Trinkgläsern und anderen Gegenständen Verwendung finden. Dieser Oberflächenentkeimung bedient man sich auch in Kühlräumen, wo Fleisch gelagert wird, um die bakterielle Invasion möglichst klein zu halten.

Das Anwendungsgebiet der ionisierenden Strahlen ist wegen der größeren Durchdringungsfähigkeit weitreichender. Diese Sterilisationsmethode bietet verschiedene Vorteile gegenüber den konventionellen Prozessen. Bei geeigneter Dosis und geeigneten Objekten führt sie zur Sterilität, der Temperaturanstieg ist nur sehr gering und das Sterilisationsgut kann vor dem Sterilisationsprozeß verpackt werden.

In vielen Teilen der Welt, vor allem USA und England, werden Anstrengungen unternommen, die Nahrungskonservierung mit Hilfe von Strahlen durchzuführen. Versuche mit Fleisch, Fisch, Früchten, Eiern, Gemüse, Milch und Getreide sind bereits erfolgt. Ebensowenig wie durch UV-Strahlen eine absolute Keimfreiheit zu erzielen ist, kann bei der Anwendung ionisierender Strahlen zur Nahrungskonservierung die Zerstörung aller Mikroorganismen erreicht werden, ohne die Eigenschaften der Nahrungsmittel zu verändern.

Für diese Sterilisation müßten Dosen bis zu 4 - 5 x 10^6 rad angewandt werden. Diese Dosen führen zu einer Geruchs-, Farb- und Geschmacksbeeinträchtigung in vielen Nahrungsmitteln. Das resultiert daraus, daß z.B. in Fleisch, wenn es hohen Bestrahlungsdosen ausgesetzt ist, Hydrogensulfit, Methylmercaptan und andere nicht identifizierte Verbindungen entstehen. Der Verkaufswert der Ware aber verlangt, daß bestrahlte Nahrungsmittel in Farbe, Geruch und Geschmack unverändert bleiben. Andererseits muß eine ausreichende Sicherheit gewährleistet sein, wenn so behandelte Nahrungsmittel für den Verbrauch bestimmt sind. Ziel der ionisierenden Bestrahlung zum Zweck der Nahrungskonservierung ist deshalb die Abtötung aller Fäulniserreger und pathogenen Keime. Der Gehalt der Nahrung an folgenden Bakterien kann gesundheitsgefährdend sein: Cl. botulinum, Cl. perfringens, Bac. cereus, Salmonella und Staphylococcus aureus (WHO Report 1964). Die Strahlendosis muß so ausgerichtet sein, daß die Gefahr einer Intoxikation bei Genuß strahlenkonservierter Nahrungsstoffe ausgeschlossen werden kann. Erforderliche Dosen bei der möglichen Applikation ionisierender Strahlen für verschiedene Nahrungsmittel sind in einer Tabelle des WHO Reports (1964) enthalten.

L e y and F r e e m a n (1963) bestimmten z. B. die erforderliche Dosis zur Elimination von Salmonellen aus gefrorenen, ganzen Eiern mit 0,5 Mrad. Eine solche Menge ist aber völlig unzureichend für Cl. botulinum. K e m p e (1962) gibt eine Strahlendosis von ca. 4 Mrad bei Untersuchungen mit infiziertem Rindfleisch (5 x 10^6 Sporen/g) an. Die erforderliche Dosis ist aber abhängig von der Größe der Infektion. Untersuchungen vom A n n e l i s et al (1965) mit in Konservenbüchsen verschlossenem Speck und Schinken, der mit verschiedenen Stämmen von Cl. botulinum infiziert wurde, haben ergeben, daß 4,5 Mrad mehr als ausreichend für Sterilisationszwecke mit Gammastrahlen sind. Die experimentelle Minimaldosis lag bei 2 Mrad. Bei Dosen unterhalb 2 Mrad traten vereinzelt Fäulnisvorgänge auf. Toxinbildung zeigte sich nicht immer in einer Bombierung der Büchsen, andererseits konnte eine Volumenzunahme nicht immer als Zeichen einer toxischen Fäulnis gewertet werden.

Ein großes Problem ist die Identifizierung der bei der Bestrahlung entstehenden Verbindungen und die Verhütung des strahlenin-

duzierten Geruchs und Geschmacks. Bei Bestrahlung unter Raumtemperatur verliert rotes Fleisch seine Farbe. Vitamine können bei dem Prozeß zerstört werden. Früchte verlieren mitunter ihren Duft und nehmen einen unangenehmen Geruch an. Einige dieser unerwünschten Begleiterscheinungen lassen sich durch Entzug von Sauerstoff oder Erniedrigung der Temperatur vermeiden. Möglicherweise sind Nachteile durch Reduktion der Dosis in Verbindung mit anderen Maßnahmen zu umgehen, z.B. Anwendung von Antibiotika und Strahlenbehandlung. Viren sind nur mit sehr viel höheren Dosen abzutöten als toleriert werden können, hingegen leicht durch Hitze zu zerstören. Eine kombinierte Behandlung mit Strahlen und Temperatur könnte angezeigt sein, unerwünschte Nebenwirkungen auszuschließen und dennoch voll effektiv zu sein.

Die Anforderungen , die an ein bestrahltes Nahrungsmittel gestellt werden müssen, sind folgende: Sicherheit vor carcinogener und toxischer Wirkung, microbiell einwandfreier Zustand, außerdem darf keine induzierte Radioaktivität enthalten sein. Aber erst ab 4 MeV ist induzierte Radioaktivität zu befürchten (WHO Report 1964). Ebenso muß von dem Verpackungsmaterial der bestrahlten Nahrung verlangt werden, daß es einen wirksamen Schutz vor einer Rekontamination bietet, und keine Stoffe aus dem Material selbst in die Nahrung einwandern können.

Auf pharmazeutischem Gebiet sind die Wirkungen der Kathodenstrahlen an einer Reihe parenteraler Mittel geprüft worden: Antibiotika, Hormone, Steroide, Proteine, Multivitaminpräparate, Antikoagulantien, Alkaloide und Sulfonamide. 2×10^6 rep wurden für ausreichend befunden, eine komplette Abtötung aller bakteriellen Keime zu erreichen. Die Einbuße an Wirksamkeit bei manchen Präparaten war nicht größer als bei Anwendung konventioneller Sterilisationsmethoden. Lagerung von vier Penicillin-Präparaten und zwei Multivitaminen über vier Jahre führte zu keinem Verlust der Stabilität, die der Bestrahlung zugeschrieben werden konnte (B e l l a m y et al 1955). Suspensionen von Viren (Influenza, Vaccinia, Poliomyelitis) sind zur Verwendung als Vaccine mit Strahlen inaktiviert worden.

Medizinische Bedarfsartikel müssen absolut keimfrei sein. Dies läßt sich hierbei im Gegensatz zur Nahrungskonservierung durch

Strahlen realisieren. Catgut, Katheder, Verbandstoffe, Kombinationspackungen von Instrumenten und Verbandstoffen, Infusionsgeräte, Injektionskanülen und Injektionsspritzen werden gegenwärtig erfolgreich mit ionisierenden Strahlen behandelt. Einmal-Geräte bieten eine individuelle Hygiene, und ein großes Maß an Sicherheit wird gewährleistet. Der Bedarf an Injektionsspritzen , die zum einmaligen Verbrauch bestimmt sind, wird in der Bundesrepublik auf zehn bis zwanzig Mio Stück pro Monat geschätzt (P e t e r 1962). Großindustriell werden Einmal-Geräte meist in Lohnbestrahlungsanlagen sterilisiert, weil der finanzielle Aufwand für viele Firmen in keinem Verhältnis zur Größe der Produktion steht. Die erste industrielle Gammabestrahlungsanlage Kontinentaleuropas befindet sich in Deutschland bei der Firma Braun/ Melsungen.

Zur Prüfung der Wirksamkeit und Bestimmung der Dosis ionisierender Strahlen für medizinische Bedarfsartikel bedienten sich O l i v e r and T o m l i n s o n (1960) infizierter Fäden in Gummihandschuhen. Die Fäden wurden mit vier Sporenarten beimpft, in die Gummihandschuhe eingelegt und mit einem Plastikbehälter verschlossen. Mit einer Dosis von 1,5 Mrad konnten 99,99% jeder Sporenart abgetötet werden. Als Sicherheitsdosis werden 2,5 Mrad angegeben. Mit ansteigender Dosis nahm allenfalls die Zugfestigkeit der Handschuhe ab. Die Möglichkeit, das Material bei mehrfacher Sterilisation vor einem Qualitätsverlust durch chemisch schützende Agentien zu bewahren, wird in Erwägung gezogen. Bei ihren Untersuchungen ergab sich ferner, daß Sporen im Lumen von Kanülen gleichermaßen abgetötet wurden wie innerhalb von Plastikröhren.

Das Verpackungsmaterial hat eine Reihe von Aufgaben zu erfüllen. Es muß gut vom Sterilisationsmittel zu durchdringen sein. Während der Lagerung muß die Sterilität gewährleistet bleiben, und der Inhalt leicht und ohne Gefahr der Kontamination zu entnehmen sein. Außerdem muß das Material eine gewisse Widerstandsfähigkeit gegenüber mechanischer Beanspruchung aufweisen. Als Verpackungsmaterial finden Papier, Stoff, Metall und Plastikhüllen Verwendung. Während Stoff nur eine wenig wirksame Bakterienbarriere darstellt, und Metall günstig für die Sterilisation im Heißluft-

sterilisator ist, sind Plastik- und Metallfolien besonders geeignet für die Sterilisation durch Strahlen. Die Plastikfolien bestehen meist aus Polyvinylchlorid oder Polyäthylen und erfüllen die an ein Verpackungsmaterial zu stellenden Anforderungen. Sie sind undurchlässig für Staub und Bakterien, widerstandsfähig bei mechanischer Belastung und durchlässig für das Sterilisationsmittel "Strahlen".

Die Bedeutung der Strahlensterilisation ergibt sich aus den Vorteilen, die sie bietet. Da bei dem Prozeß ein Temperaturanstieg von höchstens 3° C auftritt, sind alle hitzeempfindlichen Materialien besonders für diese Methode geeignet. Neben der zukunftsweisenden Bedeutung der Strahlensterilisation für die Nahrungskonservierung und die Anwendung bei der Keimfreimachung pharmazeutischer Produkte sind es vor allem medizinische Bedarfsartikel, die gegenwärtig das Hauptanwendungsgebiet darstellen. Das atomare Zeitalter hat auch der Medizin neue Quellen erschlossen. Obwohl die Strahlensterilisation im Labor- und Krankenhausbereich vorläufig keinen Eingang finden wird, da sie zu aufwendig ist, stellt sie in der Großindustrie eine wichtige Alternative zu den klassischen Sterilisationsmethoden dar.

Tab. 1 (nach Rubbo, S.D. and J.F. Gardner, 1965)

Keimtötende UV-Dosen für verschiedene Mikroorganismen
(10^6 - 10^7 Org./ ml Leitungswasser; 2m Abstand)

Mikroorganismen	Keimtötende Dosis in Microwattsec./cm^2		
	90%	99%	99,99% Abtötung
	IF=10^1	IF=10^2	IF=10^4 (Inakt.Fakt.)
Rabbit pox virus (250 mμ)	1,000	2,000	5,000
Influenza virus (80-100 mμ)	1,000	2,000	>5,000
Escherichia coli	3,000	6,000	12,000
Shigella flexneri	3,000	6,000	12,000
Proteus vulgaris	3,000	6,000	12,000
Staphyl. aureus	3,000	6,000	12,000
Salmon. typhi	4,000	8,000	16,000
Strept. pyogenes	4,000	8,000	16,000
Mycob. tuberculosis BC6	5,000	10,000	20,000
Coryneb. diphtheriae	5,000	10,000	20,000
Bac. subt. Sporen	10,000	20,000	40,000
Sarcina lutea	15,000	30,000	60,000
Saccharom. cerevisiae	17,000	34,000	68,000
Penic. digit. Sporen	40,000	80,000	160,000
Asperg. niger Sporen	150,000	300,000	600,000

Tab. 2 (nach Rubbo, S.D. and J.F. Gardner, 1965)

Sterilisierungsdosen für ionisierende Strahlen

Gruppe	Organismen	Dosen in Mrad
Sensitive	Vegetative Bakterien	0,05 - 0,5
	Animalische Viren (>75mμ)	0,05 - 0,5
Mäßig resistente Org.	Bacillus anthracis Sporen	0,5 - 2,0
	Clostridium Sporen	0,5 - 2,0
	Schimmel- u. Hefepilze	0,5 - 2,0
	Animalische Viren (20-75mμ)	0,5 - 2,0
Resistente	Bac. pumilus Sporen	2,0 - 4,0
	Micrococcus radiodurans	2,0 - 4,0
	Animalische Viren (<20mμ)	2,0 - 4,0
	Bakterielle Viren	2,0 - 4,0

Zusammenfassung

1.) Mikroorganismen können durch ionisierende und nichtionisierende Strahlen abgetötet werden.

2.) Der Wirkungsmechanismus der letalen Strahlenaktion ist noch umstritten. Direkte und indirekte Effekte werden diskutiert.

3.) Reaktivierungsvorgänge sind abhängig von der Bestrahlungsart, mit der ein Schaden gesetzt wurde, und von dem Zeitintervall zwischen der Strahleneinwirkung und der Nachbehandlung.

4.) Die totale Sterilisierungsdosis ergibt sich aus der Intensität der Strahlungsquelle und der Expositionszeit. Die Wirkungskurve zeigt für die meisten Bakterien einen exponentiellen Verlauf.

5.) Die Mikroorganismen, auch verschiedene Stämme einer Art, haben unterschiedliche Resistenzgrade. Die Sterilisierungsdosis mit ionisierenden Strahlen muß unter den Bedingungen des kommerziellen Prozesses bestimmt werden. Sie liegt zwischen 2 - 4,5 Mrad.

6.) Die "kalte" Sterilisation bietet zwei große Vorteile gegenüber konventionellen Methoden. Der Sterilisationsvorgang erfolgt ohne Temperaturentwicklung, und das Sterilisationsgut kann vor der Strahleneinwirkung verpackt werden.

Literatur

AHN, T.H., H. NISHIHARRA and C.M. CARPENTER: Viability and metabolism of Staphylococcus aureus after freezing, lyophilization and irradiation. J. Bact. 88, 545-552 (1964).

ANDERSON, A.W., H.C. NORDAN, R.F. CAIN, G. PARRISH and D. DUGGAN: Studies on a radio-resistant micrococcus. I. Isolation, morphology, cultural characteristics and resistance to gamma radiation. Food Technol. 10, 575-578 (1956).

ANDERSON, E.H.: Reactivation of ultraviolet-irradiated Bacteria. Am.J.Botany 36, 807 (1949).

ANDERSON, E.H.: Heat reaction of ultraviolet-inactivated Bacteria. J.Bact. 61, 389-394 (1951).

ANNELIS, A., N. GRECZ, D.A. HUBER, D. BERKOWITZ, M.D. SCHNEIDER and M. SIMON: Radiation Sterilization of Bacon for military feeding. Appl. Microb. 13, 37-42 (1965).

ANNELIS,A. and R.B. KOCH: Comparative resistance of Clostridium botulinum to gamma rays. Appl. Microb. 10, 326-330 (1962).

ATWOOD, K.C. and G.E. STAPLETON: Lethal mutations and the bactericidal action of ionizing radiation. Naturw. 39, 330-331 (1952).

BARNARD, J.E. and H.de R. MORGAN: The physical factors in phototherapy. Brit.Med.J. 2, 1269-1271 (1903).

BARTHOLOMEW, J.W. and T. MITTWER: Effect of ultraviolet irradiation on Gram positiveness. J. Bact. 63, 779-783 (1952).

BELLAMY, W.D. and M.T. GERMAIN: An attempt to photoreactivate ultraviolet inactivated streptococci. J. Bact. 70, 351-352 (1955).

BELLAMY, W.D., S.A. GOLDBLITH, G.C. CLOVOS and C.F. NIVEN jr.: Symposium on applications of ionizing radiation to food and pharmaceutical preservation. Bact. Rev. 19, 266-269 (1955).

BERGER, H., F.L. HAAS, O. WYSS and W.S. STONE: Effect of sodium azide on radiation damage and photoreactivation. J. Bact. 65, 538-543 (1953).

BILLEN, D. and R. HEWITT: Physiological aspects of modification and restoration of chromosomal synthesis in bacteria after X-irradiation. J. Bact. 90, 1218-1225 (1965).

BURNETT, W.T.jr., M.L. MORSE, A.W. BURKE jr. and A. HOLLAENDER: Reduction of the x-ray sensitivity of Escherichia coli by sodium hydrosulfite and certain other inorganic sulfur compounds. J. Bact. 63, 591-595 (1952).

CHARLES, R.L. and L. ZIMMERMANN: Darkreactivation in ultraviolet irradiated Escherichia coli. J. Bact. 71, 611-616 (1956).

CHRISTENSEN, E.A. and K. SEHESTE: Radiation resistance of Streptococcus faecium and spores of Bacillus subtilis dried in various media. Acta path. microb. scand. 62, 448-458 (1964).

COSTILLOW, R.N.: Fermentative activities of control and radiation-"killed" spores of Clostridium botulinum. J. Bact. 84, 1268-1273 (1962).

DAVIS, N.S., G.J. SILVERMAN and E.B. MASUROVSKY: Radiation resistant, pigmented coccus isolated from haddock tissue. J. Bact. 86, 294-298 (1963).

DAVIS, R.J., V.L. SHELDON and S.I. AUERBACH: Lethal effects of gamma radiation upon segments of a natural microbial population. J. Bact. 72, 505-510 (1956).

DITTRICH, W.: Indirekte Strahlenwirkung und zeitliche Dosisverteilung. Z. f. Naturf. 8 B, 10-13 (1953).

DOWNES, A. and T.P. BLUNT: Researches on the effect of light upon bacteria and other organisms. Proc. Roy. Soc. (London) 26, 488-500 (1877).

DUGGAR, B.M. and A. HOLLAENDER: Irradiation of plant viruses and of microorganisms with monochromatic light. I. The virus of typical tobacco mosaic and Serratia marcescens as influenced by ultraviolet and visible light. J. Bact. 27, 219-239 (1934).

DUGGAR, B.M. and A. HOLLAENDER: Irradiation of plant viruses and of microorganisms with monochromatic light. II. Resistance to ultraviolet radiation of a plant virus as contrasted with vegetative and spore stages of certain bacteria. J. Bact. 27, 241-256 (1934).

DULBECCO, R.: Experiments on photoreactivation of bacteriophages inactivated with ultraviolet radiation. J. Bact. 59, 329-347 (1950).

DYER, J.K., A.W. ANDERSON and PISAWAT DUTIYABODHI: Radiation survival of food pathogens in complex media. Appl. Microb. 14, 92-97 (1966).

EHRISMANN, O.: Über den Mechanismus der bactericiden Wirkung ultravioletter Strahlen. Z. Hyg. 111, 618-643 (1930).

EHRISMANN, O. und W. NOETHLING: Über die bactericide Wirkung monochromatischen Lichtes. Z. f. Hyg. u. Infekt.Kr. 113, 597-628 (1932).

ELDER, R.L. and R.F. BEERS jr.: Non photoreactivating repair of ultraviolet light-damaged transformating deoxyribonucleic acid by Micrococcus lysodeicticus extracts. J. Bact. 90, 681-686 (1965).

ELLISON, S.A., B.F. ERLANGER and P. ALLEN: The chemical reversal of ultraviolet effects on bacteria. J. Bact. 69, 536-540 (1955).

FLUKE, D.J. and E.C. POLLARD: Ultraviolet action spectrum of T_1 bacteriophage. Science 110, 274-275 (1949).

FRAM, H., B. PROCTOR and C.G. DUNN: Effects of X-rays produced at 50 kilovolts on different species of bacteria. J. Bact. 60, 263-267 (1950).

GÄRTNER, K.: Zur unterschiedlichen Wirkung ultravioletter Strahlen auf grampositive und gramnegative Bakterien. Z. Hyg. 273, 126-127 (1944-48).

GATES, F.L.: A study of the bactericidal action of ultraviolet light. J. Gen. Physiol. 13, 231-248 (1929).

GATES, F.L.: Results of irradiating Staphylococcus aureus bacteriophage with monochromatic ultraviolet light. J. Exptl. Med. 60, 179-188 (1934).

GEISSLER, T.: Zur Frage über die Wirkung des Lichtes auf Bakterien. Zentralbl. f. Bakt. 11, 161-173 (1892).

GOUCHER, C.R., J. KAMEI and W. KOCHOLATY: Ultraviolet inactivation and photoreactivation of Azotobacter. J. Bact. 72, 184-188 (1956).

GRAINGER, Th. jr.: The effects of X-rays on a strain of Eberthella typhosa. J. Bact. 53, 165-172 (1947).

GUNTER, S.E. and H.J. KOHN: Effects of X-rays on the survival of bacteria and yeast. II. Relation of cell concentration and endogenous respiration to sensitivity. J. Bact. 72, 422-428 (1956)

GWATKIN, R.B. and D. GOTTLIEB: Mutants recovered after exposure of Streptomyces venezuelae to X-rays. J. Bact. 71, 328-332 (1956).

HABERLAND, H.F.O. und K. KLEIN: Die Wirkung der Röntgenstrahlen auf Tubercelbacillen. Münch. Med. Wochenschr. 68, 1049-1050 (1921)

HABERMAN, S.: Dissociation of staphylococci by X-rays. J. Bact. 42, 148-149 (1941).

HABERMAN, S. and L.D. ELLSWORTH: Lethal and dissociative effects of X-rays on bacteria. J. Bact. 40, 483-503 (1940).

HEINMETS, F.: Reactivation of ultraviolet inactivated E. coli by pyruvat. J. Bact. 66, 455-457 (1953).

HEINMETS, F. and R.H. KATHAN: Preliminary studies on the mechanism of biological action of ultraviolet irradiation and metabolic recovery phenomenon. Arch. Biochem. and Biophys. 53, 205-227 (1954).

HEINMETS, F. and W.W. TAYLOR jr.: Photobiological studies on E. coli at low temperatures. J. Bact. 62, 477-485 (1951).

HERCIK, F.: Action of ultraviolet light on spores and vegetative forms of B. megatherium sp. J. Gen. Physiol. 20, 589-594 (1936).

HOLLAENDER, A.: Aerobiology, Lancaster, Penn.: Amer. Ass. Adv. Sci. (1942).

HOLLAENDER, A.: Effect of long ultraviolet and short visible radiation (3500-4900 A) on E. coli. J. Bact. 46, 531-541 (1943).

HOLLAENDER, A. and W.D. CLAUS: The bactericidal effect of ultraviolet radiation on E. coli in liquid suspensions. J. Gen. Physiol. 19, 753-765 (1936).

HOLLAENDER, A. and B.M. DUGGAR: Irradiation of plant viruses and of microorganisms with monochromatic light. III. Resistance of virus of typical tobacco mosaic and E. coli to radiation from 3000 A to 2250 A. Proc. Natl. Acad. Sci. US 22, 19-22 (1936)

HOLLAENDER, A. and C.W. EMMONS: The action of ultraviolet radiation on dermatophytes. I. The fungicidal effect of monochromatic ultraviolet radiations on the spores Trichophyton mentagrophytes. J. Cell.Comp. Phys. 13, 391-402 (1939).

HOLLAENDER, A. and J.W. OLIPHANT: The inactivation effect of monochromatic ultraviolet radiation on influenza virus. J. Bact. 48, 447-454 (1944).

HOLLAENDER, A., G.E. STAPLETON and F.L. MARTIN: X-rays sensitivity of E. coli as modified by oxygen tension. Nature 167, 103-104 (1951).

HOLLAENDER, A.and G.E. STAPLETON: Fundamental aspects of radiation protection from a microbiological point of view. Physiol. Revs. 33, 77-84 (1953).

HOUTERMANS, T.: Über den Einfluß des Wachstumszustandes eines Bakteriums auf seine Strahlenempfindlichkeit. Z. Naturforschg. 8 b, 767-771 (1953).

HOUTERMANS, T.: Über den Einfluß der Temperatur auf biologische Strahlenwirkungen. 2. Mitt. Inaktivierung von trockenen und feuchten Sporen von Bac. subtilis durch Alpha- und Röntgenstrahlen. Z. Naturforschg. 11 b, 636-643 (1956).

HUNT, D.E.: Amino acids as protective compounds in ultraviolet-irradiated Hansenula wingei. J. Bact. 88, 893-895 (1964).

JAGGER, J.: Photoreactivation . Bact. Revs. 22, 99-142 (1958).

JAGGER, J. and R. LATARJET: Spectres d'action de la photorestauration chez E. coli B/r. Ann. inst. Pasteur 91, 858-873 (1956).

JAYSON, G.G., D.C. PICKERING, W. MARKHAM and M.S. PARKER: Radioprotective action of Calcium on Serratia marcescens. Naturwissensch. 52, 185 (1965).

JOHNSON, F.H.: Effects of electromagnetic waves on fungi. Phytopath. 22, 277-300 (1932).

JOHNSON, F.H., E.A. FLAGLER and H.F. BLUM: Relation of oxygen to photoreactivation of bacteria after ultraviolet radiation. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 74, 32-34 (1950).

KELNER, A.: Effect of visible light on the recovery of Streptomyces griseus conidia from irradiation injury. Proc. Nat. Acad. Sci. US 35, 73-79 (1949 a).

KELNER, A.: Photoreactivation of ultraviolet-irradiated E.coli, with special reference to the dose-reduction principle and to ultraviolet-induced mutations. J. Bact. 58, 511-522 (1949 b).

KELNER, A.: Action spectra for photoreactivation of ultraviolet-irradiated Escherichia coli and Streptomyces griseus. J. Gen. Physiol. 34, 835-852 (1951).

KELNER, A., W.D. BELLAMY, G.E. STAPLETON and M.R. ZELLE: Symposium on radiation effects on cells and bacteria. Bacteriol. Revs. 19, 22-44 (1955).

KEMPE, L.L. and J.T. GRAIKOSKI: Gamma-ray sterilization and residual toxidity studies of ground beef inoculated with spores of Clostridium botulinum. Appl. Microb. 10, 31-36 (1962).

KEMPE, L.L., J.T. GRAIKOSKI and R.A. GILLIES: Gamma-ray sterilization of canned meat previously inoculated with anaerobic bacterial spores. Appl. Microb. 2, 330-332 (1954).

KIMBALL, R.F. and N.T. GAITHER: The influence of light upon the action of ultraviolet on Paramecium aurelia. J. Cell. Comp. Physiol. 37, 211-231 (1951).

KOLLER, L.R.: Bactericidal effect of ultraviolet radiation produced by low pressure mercury vapor lamp. J. Appl. Phys. 10, 624-630 (1939).

LANGENDORFF, H. u. M. und K. SOMMERMEYER: Sensibilisierung und Reaktivierung röntgenbestrahlter Coli-Bakterien durch Wärme. Z. Naturforschg. 8 B, 117-122 (1953).

LATARJET, R.: Spontaneous and induced cellrestorations after treatments with ionizing and non-ionizing radiations. Acta Radiol. 41, 84-100 (1954).

LEA, D.E.: The action of radiation on virus and bacteria. Brit. Med. Bull. 4, 24-26 (1946).

LEA, D.E. and R.B. HAINES: The bactericidal action of ultraviolet light. J. Hyg. 40, 162-171 (1940).

LEA, D.E., R.B. HAINES and E. BRETSCHLER: Bactericidal action of X-rays, neutrons and radioactive radiations. J. Hyg. 41, 1-16 (1941).

LEA, D.E., R.B. HAINES and C.A. COULSON: Action of radiations on bacteria. III. Gamma-rays on Growing and on Nonproliferating bacteria. Proc. Roy. Soc. (London) B 123, 121-138 (1937).

LEY, F.J. and B.M. FREEMAN: The use of gamma sterilization for the elimination of salmonella from various foods. J. Hyg. 61, 515-529 (1963).

LUCKIESH, M. and T. KNOWLESS: Resistivity of E. coli to ultraviolet energy (2537) as affected by irradiation of preceding cultures. J. Bact. 55, 269-372 (1948).

MATNEY, T.S., D.M. SHANKEL and O. WYSS: Mutations induced by ultraviolet light without attendant lethality. J. Bact. 75, 180-183 (1958).

McCOLLOCH, E.C.: Desinfection and sterilization, 2d ed Philadelphia Lea and Febinger (1945).

MILLER, J.N.: Immunity in experimental Syphilis. III. Attenuation of virulent Treponema pallidum by Gamma- Irradiation. J. Bact. 90, 297-301 (1965).

MINCH, F.: Zur Frage über die Einwirkung der Röntgenschen Strahlen auf Bakterien und ihre evtl. therapeutische Verwendbarkeit. Münch. med. Wochenschr. 5, 101-102 (1896).

NAKAMURA, M. and C.M. RAMAGE: Effects of various postirradiation treatments on ultraviolet irradiated Shigella sonnei. J. Hyg. 61, 77-82 (1963).

NEWCOMBE, H.B. and H.A. WHITEHEAD: Photoreversal of ultraviolet-induced mutagenic and lethal effects in E. coli. J. Bact. 61, 243-251 (1951).

NORMAN, A.: Production of phenocopies in Aerobacter aerogenes by ultraviolet radiation. J. Bact. 65, 151-156 (1953).

NORMAN, A. and M.A. GREENFIELD: Lethal mutations and the bactericidal action of ionizing radiations. Naturwiss. 39, 22 (1952).

OLIVER, R. and A.H. TOMLINSON : The sterilization of surgical rubber gloves and plastic tubing by means of ionizing radiation. J. Hyg. 58, 465-472 (1960).

PATT, H.M.: Protective mechanisms in ionizing radiation injury. Physiol. Revs. 33, 35-76 (1953).

PEACOCK, M.G. and M. NAKAMURA, M.: Chemical protection and chemoresuscitation of ultraviolet-irradiated Shigella sonnei. J. Bact. 86, 161-162 (1963).

PETER, K.H.: Kontinuierliche Sterilisation von Einweg-Geräten mit schnellen Elektronen. Medizinal-Markt/Acte Medicotechnica 10, 462-463 und 512-514 (1962).

PRAT, S.: Strahlung und antagonistische Wirkungen. Protoplasma 26, 113-149 (1936).

PROCTOR, B.E. and S.A. GOLDBLITH: Food processing with ionizing radiations. Food Technol. 5, 376-380 (1951).

RAHN, O.: Physical methods of sterilization of microorganisms. Bact. Revs. 9, 1-47 (1945).

RENTSCHLER, H.C. and R. NAGY: Advantages of bactericidal ultraviolet radiation in air conditioning systems. Heating, Piping, Air Conditioning 12 , 127-130 (1940).

RENTSCHLER, H.C., R. NAGY and G. MOUROMSETT: Bactericidal effect of ultraviolet radiation. J. Bact. 41, 745-774 (1941).

RICE, C.E. and R.B. GUILFORD: Studies on variability of tubercle bacilli; influence of X-rays on dissociation. Can. J. Res. 5, 122-131 (1931).

RITZEFELD, W. und O. JETZEK: Morphologie und Säurefestigkeit von Mycob. smegmatis nach Kobalt-60-Bestrahlung. Naturwiss. 52, 543 (1965).

RIVERS, T.M. and F.L. GATES: Ultraviolet light and vaccine virus. II. The effect of monochromatic ultraviolet light upon vaccine virus. J. Exptl. Med. 47, 45-49 (1928).

ROBERTS, R.B. and E. ALDOUS: Recovery from ultraviolet irradiation in E. coli. J. Bact. 57, 363-375 (1949).

ROUX, E.: De l'action de la lumiere et de l'air sur les spores de la bacteridie du charbon. Ann. inst. Pasteur 1, 445-452 (1887)

RUBBO, S.D. and J.F. GARDNER: A review of sterilization and disinfection. London: Lloyd-Luke (Medical books) (1965).

RUBIN, B.A.: Growth and mutation of bacteria during continuous irradiation. J. Bact. 67, 361-368 (1954).

RUPERT, C.S.: Photoenzymatic repair of ultraviolet damage in DNA. I. Kinetics of the reaction. J. Gen. Physiol. 45, 703-724 (1962)

RUPERT, C.S.: Photoenzymatic repair of ultraviolet damage in DNA. II. Formation of an enzyme-substrate complex. J. Gen. Physiol. 45, 725-741 (1962 b).

SCHEPMAN, W. und H. FLECKE: Über die Einwirkung "überweicher Röntgenstrahlen" auf Bakterien. Klin. Wochenschr. 5, 1608-1611 (1926).

SCHMIDT, B., I. MÖLLER und W.THIELE: Experimentelle Untersuchungen über die Desinfektion von Trinkwasser mit ultravioletten Strahlen. Z. Hyg. 139, 505 (1954).

SHARP, D.G.: The lethal action of short ultraviolet rays on several common pathogenic bacteria. J. Bact. 37, 447-460 (1939).

SNYDER-BROWN, J.: The effect of photoreactivation on mutation frequency in neurospora. J. Bact. 62, 163-167 (1951).

SOESTBERGEN, A.A.van: X-irradiation of a sensitive and a resistant strain of Escherichia coli under controlled oxygen concentrations. J. Bact. 89, 1032- 1034 (1965).

SPOERL, E., L.E. LOVELESS, T.H. WEISMAN and R.J. BALSKE: Studies on cell division. II. X-radiation as a division inhibiting agent. J. Bact. 67, 394-401 (1954).

STAPLETON, G.E.: The influence of pretreatment and posttreatment on bacterial inactivation by ionizing radiations. Ann. N.Y. Acad. Sci. 59, 604-618 (1955).

STAPLETON, G.E. and F.L. MARTIN: Comparative lethal and mutagenic effects of ionizing radiations on Aspergillus terreus. Am. J. Bot. 36, 816 (1949).

STEIN, W. und W. HARM: Modellvorstellungen zur UV-Inaktivierung von Coli-Bakterien im Lichte von Reaktivierungseffekten. Z. Naturforschg. 8 b, 742-754 (1953).

STEIN, W. und W. HARM: Nachweis spektraler Unterschiede im Inaktivierungsmechanismus von Escherichia coli mit Hilfe von Wärme-Reaktivierbarkeit und anderer Kriterien. Z. Naturforschg. 10 b, 519-534 (1955).

STEIN, W. und W. LASKOWSKI: Vergleich der Inaktivierungen bei Escherichia coli B durch organische Peroxyde und UV-Bestrahlungen unter besonderer Berücksichtigung der Wärme- und Photoreaktivierbarkeit. Z. Naturforschg. 11 b, 643-653 (1956).

STEIN, W. und I. MEUTZNER: Reaktivierung von UV-inaktivierten Bact. coli durch Wärme. Naturwiss. 37, 167-168 (1950).

STURM, E., F.L. GATES and J.B. MURPHY: Properties of the causative agent of a chicken tumor. II. The inactivation of the tumor-producing agent by monochromatic ultraviolet light. J. Exptl. Med. 55, 441-444 (1932).

STUY, J.H.: Photoreactivation of ultraviolet-inactivated bacilli. Biochem. et Biophys. Acta 17, 206-211 (1955).

SYKES, G.: Disinfection and Sterilization. Theory and Practica. 2d ed. London: General and industrial Chemistry series (1965).

TAMM, J. and D.J. FLUKE: The effect of monochromatic ultraviolet radiation on the infectivity and hemagglutinating ability of the influenza virus type A strain PR-8. J. Bact. 59, 449-461 (1950).

TARPLEY,W., J. JLAVSKY, B.MANOWITZ and R.v. HORRIGAN: Radiation sterilization. I. The effect of high energy Gamma-radiation from Kilocurie radioactive sources on bacteria. J. Bact. 65, 305-309 (1953).

THOMPSON, T.L., R.B. MEFFERD jr. and O. WYSS: The protection of bacteria by pyruvat against radiation effects. J. Bact. 62, 39-44 (1951).

TOBIN, J.O.: Some observations on the effect of X-rays on the behaviour of a temporate phage in two strains of Pseudomonas pyocyanea. Brit. J. Exptl. Pathol. 34, 635-646 (1953).

TRUMP, J.E.: Symposium on Sterilization of Surgical Materials. London: The pharmaceutical Press (1961).

VELA, G.A. and O. WYSS: Radiation resistance of soil azotobacte J. Bact. 89, 1280-1285 (1965).

WARBURG, O.: The mechanism of biological X-ray action. Naturwiss. 51, 373-376 (1964).

WATSON, J.D.: The properties of X-ray inactivated bacteriophage I. Inactivation by direct effects. J. Bact. 60, 697-718 (1950

WEATHERWAX, R.S.: Desensitization of Escherichia coli to ultraviolet light. J. Bact. 72, 329-332 (1956).

WELLS, P.H. and A.G. GIESE: Photoreactivation of ultraviolet light injury in gametes of the sea urchin Strongylocentrotus purpuratus. Biol. Bull. 99, 163-172 (1950).

WELLS, W.F.: Bactericidal irradiation on air. J. Franklin Inst. 229, 347-372 (1940).

WELLS, W.F.: Air-borne Contagion and Air Hygiene. Havard, Mass. Havard Univ. Press (1955).

WELLS, W.F. and M.W. WELLS: Air-borne infection. J. Am. Med. Assoc. 107, 1698-1708, 1805-1809 (1936).

WHISLER, B.: The efficacy of ultraviolet light sources in killi bacteria suspended in air. Jowa State Collage J. Sci. 14, 215-231 (1940).

WHO/FAO/IAEA Report of a Joint: The technical basis for legisla tion on irradiated food. Expert Committee Rome 21-28 April . WHO Technical Report Series N. 299-316 (1964).

WOESE, C.: Further studies on the ionizing radiation inactivati of bacterial spores. J. Bact. 77, 38-42 (1959).

WYCKHOFF, R.W.G.: The killing of colon bacilli by ultraviolet light. J. Gen. Physiol. 15, 351-361 (1932).

WYSS, O., J.B. CLARK, F. HAAS and W.S. STONE: The role of peroxide in the biological effects of irradiated broth. J. Bact. 56, 51-57 (1948).

ZAMENHOF, S., H. BURSZTYN, T.K.R. REDDY and P.J. ZAMENHOF: Genetic factors in radiation resistance of Bacillus subtilis. J. Bact. 90, 108-115 (1965).

ZELLE, M.R. and A. HOLLAENDER: Effects of radiation on bacteria. In Radiation biology. Vol. II pp. 365-430. Ed. A. Hollaender. New York: Mc Graw-Hill Book Company, Inc. (1955).

Lebenslauf

Am 23. 2. 1939 wurde ich, Christa Schmidt geb. Seeburg, als einzige Tochter des Friseurmeisters Fritz Seeburg und seiner Ehefrau Marta geb. Wernitz in Berlin geboren. Von 1945 bis 1953 besuchte ich die Grundschule in Kremmen/Mark Brandenburg; von 1953 bis 1957 die Puschkin-Oberschule in Hennigsdorf, wo ich die Reifeprüfung ablegte. Das 13. Schuljahr absolvierte ich an der Bertha-von-Suttner-Oberschule in Berlin-Reinickendorf und unterzog mich dort der Ergänzungsprüfung zur Anerkennung des in der SBZ erworbenen Reifezeugnisses.
Im Wintersemester 1958 begann ich das Studium der Zahnheilkunde an der Freien Universität Berlin. Die klinischen Semester belegte ich in Tübingen, wo mir am 13. Juli 1966 nach bestandenem Staatsexamen die Bestallung als Zahnärztin erteilt wurde.
Am 6. 12. 1963 heiratete ich den Studenten der Naturwissenschaften Uwe Schmidt.

Druckbüro Frau Elly HUTH, 74 Tübingen